

# ANNALES

DE

# L'INSTITUT PASTEUR

---

## ÉTUDE SUR L'ENCÉPHALO-MYÉLITE PROVOQUÉE PAR LE *TOXOPLASMA CUNICULI*

par C. LEVADITI

en collaboration avec

V. SANCHIS-BAYARRI et P. LÉPINE

(pour la partie expérimentale)

et M<sup>lle</sup> R. SCHOEN

(pour la partie histologique).

(PREMIER MÉMOIRE)

Dans une série de notes (1) présentées depuis décembre 1927 à la Société de Biologie, nous avons exposé brièvement les résultats de nos recherches concernant l'*Encéphalo-myélite toxoplasmique expérimentale*. Il s'agit, en l'espèce, d'un processus infectieux névraxique aigu ou chronique, évoluant chez différentes espèces animales après inoculation de plusieurs souches de *Toxoplasma cuniculi* [Splendore (2)] isolées dans notre laboratoire. Ces recherches n'offrent pas uniquement l'intérêt d'investigations destinées à préciser le mécanisme pathogénique des névraxites parasitaires. Elles ont une portée

(1) LEVADITI, LÉPINE, SCHOEN et SANCHIS BAYARRI. *C. R. Soc. Biol.* 97, 1927, p. 1692 ; 98, 1928, p. 292 et 297 ; 99, 1928, p. 37, 1126 et 1219.

(2) SPLENDORE. *Revista da Soc. Scient. de São-Paulo*, 3, 1908, p. 109 ; *Bull. Soc. Pathol. exotique*, 2, 1909, p. 462.

plus grande, en ce sens qu'elles paraissent élucider l'étiologie, encore obscure, de quelques maladies nerveuses humaines, telles que l'*hydrocéphalie congénitale* et l'*amaurotie familiale*.

En effet, C. Magarinos Torres vient de décrire, dans plusieurs notes présentées à la *Société brésilienne de Biologie* (1), une nouvelle maladie congénitale de l'homme, caractérisée par la présence, au niveau des tissus altérés, d'un parasite intracellulaire très proche des *Toxoplasma* et de l'*Encephalitozoon cuniculi*. Ce parasite est localisé dans les muscles, le tissu cellulaire sous-cutané et le système nerveux central. L'auteur propose le nom d'*Encephalitozoon chagasi* n. sp. pour désigner ce protozoaire.

A notre avis, les communications de Torres sont du plus haut intérêt. Nos recherches antérieures sur l'*Encephalitozoon cuniculi* (2), ainsi que nos expériences actuelles sur l'encéphalo-myélite du lapin provoquée par le *Toxoplasma cuniculi*, laissent entrevoir la possibilité de maladies névraïques humaines déterminées par des parasites analogues. Or, voici que Torres relate l'observation d'un enfant né à terme, ayant présenté des contractures musculaires généralisées et des convulsions, décédé deux jours après sa naissance. L'examen histologique a révélé des altérations intenses d'encéphalite avec présence de nodules (centre ovale de Vieussens) contenant l'*Encephalitozoon chagasi* à des stades évolutifs divers.

Ce fait nous incite à résumer une autre observation recueillie en 1923, par J. Janků, de Prague, offrant quelque analogie avec la précédente (3). « Il s'agit d'un enfant de onze mois atteint d'hydrocéphalie énorme (75 centimètres de circonférence crânienne), de colobome de la *macula lutea* et de microphthalmus congénital. On constatait, chez cet enfant, des fissures atypiques de la *macula*, sous la forme d'un foyer unique, oyoïde, horizontal, situé dans la couche pigmentaire atrophiée de la rétine et de la choroïde (œil microphthalmique). L'examen histologique du globe oculaire révélait un processus inflammatoire chronique de la choroïde, intéressant surtout la couche des capillaires; les vaisseaux choroïdiens étaient oblitérés. On

(1) MAGARINOS TORRES. *C. R. Soc. Biol.* 97, 1927, p. 1778.

(2) LEVADITI, NICOLAU et SCHOEN. *Ces Annales*, 38, 1924, p. 651.

(3) JANKŮ. *Casopis lekaruv ceskych*, 62, n<sup>os</sup> 39-43, 1923, p. 215.



constatait une dispersion des éléments de la couche granuleuse, surtout au niveau de la zone plexiforme externe, s'étendant même dans la couche granuleuse interne. Les altérations rétinienne concernaient le neuro-épithélium et la couche pigmentaire ».

Sans insister sur les lésions névrogliales de l'œil opposé, nous dirons que dans la rétine, surtout au niveau de la couche plexiforme interne, Jankû a décelé des formations spéciales « ovoïdes, de nature parasitaire, sporocystiques, mesurant de 20 à 30  $\mu$  de diamètre et contenant des sporozoïtes ». D'après

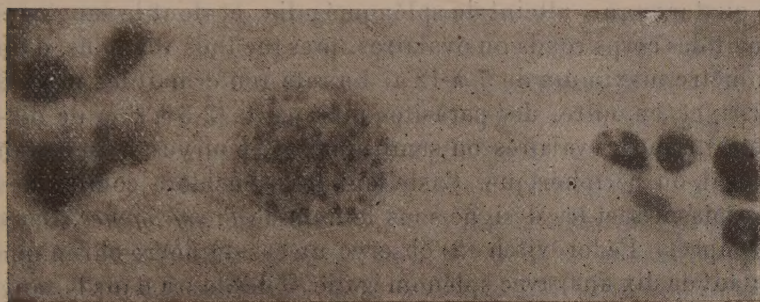


Fig. 1. — Coupe de rétine. Kyste parasitaire (pansporoblaste?).  
Préparation et microphotographie de M. Jankû.

l'auteur, l'identification de ces parasites et leur classement dans un groupe défini sont difficiles. Toutefois, l'examen des préparations de Jankû nous a donné l'impression qu'il s'agissait de protozoaires, dont la ressemblance avec certains stades évolutifs de l'*Encephalitozoon cuniculi* (pansporoblastes) était frappante (Voy. fig. 1).

Quant aux conclusions qui se dégagent de ce travail, Jankû les formule ainsi : il s'agit d'un processus inflammatoire des deux yeux ayant évolué pendant la vie fœtale de l'enfant; et déterminé par un protozoaire transmissible par voie placentaire, l'infection oculaire s'étant effectuée à des époques différentes au cours de cette vie fœtale.

Nous sommes donc en présence d'observations concernant des enfants atteints de lésions inflammatoires chroniques de l'encéphale, des yeux, des muscles et du tissu cellulaire sous-cutané, provoquées par des parasites appartenant fort proba-

blement aux groupes des protozoaires et se rapprochant aussi bien de l'*Encephalitozoon cuniculi* que des *Toxoplasma*. L'infection serait transmissible héréditairement par voie placentaire.

L'intérêt de ces observations réside dans la ressemblance entre les altérations décrites par Jankù et surtout par Torres et celles que nous trouvons dans l'encéphale de nos lapins infectés par le *Toxoplasma cuniculi*.

D'ailleurs, des constatations antérieures à celles qui viennent d'être résumées semblent prouver que des parasites du groupe des *Toxoplasma* ont été trouvés chez l'homme. En 1914, Castellani (1) rapporte, en effet, l'observation d'un cinghalais âgé de quatorze ans, atteint de splénomégalie, et dont le sang contenait des corps ronds ou ovalaires, presque tous vacuolés, d'un diamètre maximum de 7 à 12  $\mu$ . La rate renfermait les mêmes corps, et, en outre, des parasites plus petits (2,5 à 6  $\mu$  de diamètre), ronds, ovalaires ou semi-lunaires, pourvus d'un noyau central ou périphérique. Castellani les considère comme des Toxoplasmes et les désigne sous le nom de *T. pyrogenes*. Deux ans après, Fedorovitch (2) observe un cas de fièvre chronique (enfant de dix ans) avec splénomégalie. Il découvre dans le sang périphérique des parasites, qu'il rapproche de ceux décrits par Castellani. A l'exemple de cet auteur, Fedorovitch hésite à les classer, mais reconnaît qu'ils ressemblent étonnamment aux Toxoplasmes.

\*  
\* \*

Nous désirons exposer dans le présent Mémoire l'ensemble de nos recherches se rapportant à l'encéphalo-myélite toxoplasmique. Nous insisterons tout particulièrement sur la virulence du TOXOPLASMA CUNICULI pour le névraxe des diverses espèces animales susceptibles de contracter la toxoplasmose, sur le mode d'inoculation, sur les propriétés du virus et sa distribution dans les organes, sur l'évolution de la maladie et ses caractères histo-pathologiques, sur l'immunité et son mécanisme (3), etc. Nous estimons inutile de citer les nombreux travaux traitant des toxoplasmoses en général, ceux de Ch. Nicolle, de Laveran,

(1) CASTELLANI, *Journ. tropic. Med.*, 17, 1914, p. 113.

(2) FEDOROVITCH, *Ces Annales*, 30, 1916, p. 249.

(3) Ce Chapitre fera l'objet d'un second Mémoire.



de Mesnil, de Carini, de Yakimoff, etc. Notre sujet se borne surtout à l'infection toxoplasmique du système nerveux et à quelques autres problèmes, tels que la culture des Toxoplasmes en présence des cellules embryonnaires *in vitro*, ou la chimiothérapie, lesquels ne nous paraissent pas avoir été envisagés jusqu'à présent. D'ailleurs, le lecteur désireux de se mettre au courant des travaux antérieurs consultera, avec profit, l'excellent Mémoire de Chatton et Blanc (1) publié dans les *Archives de l'Institut Pasteur de Tunis*.

Il est, cependant, un travail que nous désirons analyser en détail, attendu qu'il se rattache directement à l'objet de nos recherches. Il s'agit d'une courte Note publiée en 1914 par Arantes, dans le *Brazil Medico* (2). L'auteur étudie la répartition tissulaire du *Toxoplasma canis* chez le pigeon et est frappé de l'abondance des parasites dans l'encéphale. Il y décèle des kystes parasitaires et des altérations névrauxiques intenses (« foyers de désintégration »). Les Toxoplasmes sont présents dans les cellules névrogliques, et, plus rarement, dans les leucocytes. Certains capillaires sont complètement obstrués par des parasites, d'où une thrombose provoquant la nécrose du tissu irrigué par le vaisseau obstrué. Ces constatations sont en parfait accord avec nos propres observations.

## CHAPITRE PREMIER

### Origine de nos souches toxoplasmiques.

Nos souches de *Toxoplasma cuniculi* proviennent de deux lapins contaminés spontanément (3), ayant servi tous deux à des inoculations intracérébrales de matériaux apparemment non virulents. Voici leurs protocoles :

*Lapin 403 A.* — Un *Papio babuin* n° 12 est inoculé, par voie intracérébrale avec notre souche herpétique N, le 5 octobre 1927. L'animal réagit par une élévation de la température (39°) et est sacrifié le neuvième jour. Absence

(1) CHATTON et BLANC. *Arch. de l'Inst. Pasteur de Tunis*, 10, 1917, fasc. I et II, p. 1.

(2) ARANTES. *Brazil Medico*, 28, 1914, p. 144.

(3) Ce sont les deux seuls lapins que nous ayons trouvés contaminés de Toxoplasmes parmi les milliers d'animaux ayant servi à nos expériences et dont le névraxe a été examiné histologiquement.

d'altérations microscopiques des centres nerveux (nulle trace de toxoplasmose). Son encéphale sert à préparer une émulsion, qui est inoculée par la même voie aux lapins 398 A et 403 A. Le premier de ces animaux succombe le trentième jour de méningite à *Pasteurella* (cultures positives). Le second (N° 403 A) meurt le vingt-troisième jour. Cerveau stérile. Les coupes d'encéphale permettent de déceler de tout petits nodules inflammatoires contenant des Toxoplasmes typiques. Passage de cerveau à cerveau, au lapin 542 A. Celui-ci meurt avec des phénomènes nerveux, le huitième jour. Altérations caractéristiques de toxoplasmose névraxique et présence de parasites en grand nombre.

*Lapin 501 A.* — Le suc de vésicules labiales d'un herpès buccal humain (H. B.) est inoculé à la cornée du lapin 415 A. Apparition d'une kératite intense et mort de l'animal le onzième jour (cerveau stérile). Son encéphale sert à préparer une émulsion qui est inoculée, par voie intracérébrale, au *Lapin 501 A.* Celui-ci succombe le treizième jour. L'examen histologique de son névraxe révèle les lésions suivantes :

Méningite intense à mononucléaires des septums et de la base; absence de manchons périvasculaires et d'altérations cellulaires herpétiques au niveau de la zone élective. Par contre, la méthode de Giemsa permet de déceler, au niveau des plexus fortement altérés, des cellules plasmatiques et de nombreux Toxoplasmes logés dans le cytoplasma des gros mononucléaires, des cellules névrogliales et des éléments épendymaires. Passages positifs.

Il s'agit donc de toxoplasmoses spontanées du lapin, évoluant chez des animaux ayant reçu des injections intracérébrales de matériaux non virulents. En effet, l'encéphale du *Papio babuin*. N° 12 ne montrait aucune altération herpétique; par ailleurs, le virus de l'herpès H. B., inoculé par voie cornéenne au lapin 415 A, n'a pas déterminé l'encéphalite herpétique chez cet animal. Tout porte à croire que l'injection intracérébrale a fait point d'appel, permettant la localisation névraxique de Toxoplasmes siégeant dans la rate, ou ailleurs.

Ce sont ces deux souches qui ont été indifféremment utilisées pour des passages ultérieurs.

## CHAPITRE II

### Propriétés du virus.

#### A. — ACTION DE LA GLYCÉRINE.

Afin d'entretenir nos souches toxoplasmiques, nous nous sommes servi de virus frais. Le plus souvent les passages étaient effectués chez le lapin à l'aide d'inoculations intracérébrales d'émulsions névraxiques virulentes [contrôle microscopique].



pique préalable (1)] conservées à la glacière tout au plus vingt-quatre heures. Nous avons néanmoins éprouvé la virulence d'encéphales conservés dans la glycérine stérilisée et maintenus à basse température (+ 4°). Voici les résultats de ces expériences :

EXPÉRIENCE 1. — Le cerveau du lapin 144 B, mort d'encéphalite toxoplasmique le cinquième jour, est placé dans la glycérine et conservé à la glacière.

a) *Premier essai, le deuxième jour.* Inoculation intracérébrale au lapin 214 B : résultat négatif.

b) *Deuxième essai, le troisième jour.* Même inoculation au lapin 236 B : résultat négatif.

c) *Troisième essai, le septième jour.* Même inoculation au lapin 243 B : résultat négatif.

Ces essais montrent que *les encéphales contenant des Toxoplasmes perdent leur virulence même après un court séjour (quarante-huit heures) dans de la glycérine, à basse température.*

#### B. — INFLUENCE DE LA DILUTION.

Les inoculations intracérébrales ne sont suivies de succès que si la concentration de l'émulsion en Toxoplasmes atteint un taux suffisamment élevé (dilution au 1/10, par exemple). Au-dessous d'une telle concentration, le matériel virulent ne provoque ni mort, ni même maladie apparente.

EXPÉRIENCE 2. — Le lapin 120 B reçoit, par voie transcranienne, une émulsion de cerveau riche en parasites, préalablement diluée au 20°. Aucun trouble nerveux. L'animal est sacrifié le trente-neuvième jour. L'examen histologique révèle la présence d'une légère méningite à mononucléaires, localisée au niveau des plexus choroïdes, de rares manchons périvasculaires et de tout petits nodules au voisinage de la paroi des ventricules latéraux. Absence totale de parasite sur frottis et sur coupes.

Le lapin 121 B reçoit, par la même voie, une émulsion cérébrale diluée au 100°. Même évolution. L'animal est sacrifié le trente-neuvième jour. Aucune altération microscopique du névraxe.

Le lapin 156 B est inoculé dans le lobe antérieur cérébral droit, avec une émulsion névraxique riche en Toxoplasmes, mais diluée au 500°. Aucun trouble apparent. L'animal est sacrifié le vingt-huitième jour. Mêmes altérations que chez le lapin 120 B.

De plus, ces essais ont montré que *si le virus, après avoir été*

(1) Ce contrôle était effectué sur frottis de cerveau colorés au bleu de méthylène phéniqué, ou, de préférence, au Giemsa dilué.

dilué au 50°, au 100° ou au 500°, ne provoque aucun signe morbide, il ne détermine pas moins des altérations névraïques manifestes, quoique dépourvues de parasites décelables directement, ou par inoculation. Les animaux porteurs de telles lésions sont réfractaires à des inoculations transcraniennes, mortelles pour les témoins. Ils acquièrent donc une immunité tissulaire solide.

### CHAPITRE III

#### Réceptivité de diverses espèces animales.

1° LAPIN. — Le lapin est l'animal de choix. L'inoculation de nos souches de passage est presque constamment mortelle, lorsqu'elle est pratiquée par voie intracérébrale. Nous décrirons plus loin les symptômes cliniques et l'évolution de l'encéphalomyélite toxoplasmique (voy. page 721). Disons, pour l'instant, que les *jeunes lapereaux* paraissent au moins aussi réceptifs que les lapins adultes.

EXPÉRIENCE 3. — a) *Lapereau 29 B* reçoit une émulsion cérébrale riche en toxoplasmes, par voie sous-cutanée. L'animal réagit par une inflammation nodulaire à localisation sous-épidermique et meurt le quinzième jour. Frottis de cerveau, de rate et du contenu purulent du nodule dermique : négatifs. Il en est de même des passages réalisés avec des émulsions de rate et de cerveau (lapin et souris).

b) *Lapereau 30 B*. Même inoculation, mêmes réactions. Le soixante-huitième jour, l'animal est parésié. Il meurt le soixante-quinzième jour. Frottis d'encéphale positifs. Le névraxe montre les lésions suivantes : altérations en foyer, du type encéphalitique chronique, avec présence de cellules granulo-adipeuses, manchons péri-vasculaires, méningite monocytaire des septums ; rares parasites. Un passage de cerveau à cerveau effectué sur le lapin 650 A provoque la mort par encéphalite toxoplasmique, le dixième jour.!

c) *Les lapereaux 1, 2, 3 et 4* sont inoculés avec le même matériel infectieux, mais par voie transcranienne. Le premier meurt d'encéphalite toxoplasmique le sixième jour, les trois autres le huitième jour, après avoir présenté des troubles nerveux manifestes (parésies, paralysies multiples, convulsions). Le névraxe, dans toute son étendue, est le siège d'altérations caractéristiques et contient d'innombrables parasites. Passages positifs.

2° COBAYE. — Le cobaye est susceptible de contracter l'encéphalomyélite toxoplasmique, tout comme le lapin ; il suffit de lui inoculer une émulsion cérébrale parasitée, par voie transcranienne.



EXPÉRIENCE 4. — *Cobaye 980 A.* Inoculation intracérébrale. Troubles nerveux le huitième jour. L'animal meurt le onzième jour. Altérations névraxiques du type plutôt chronique. Rares Toxoplasmes intracellulaires. Infection épendymaire.

3° SOURIS. — *Inoculation intracérébrale.* Actuellement, après de nombreux passages sur le lapin, nos souches toxoplasmiques

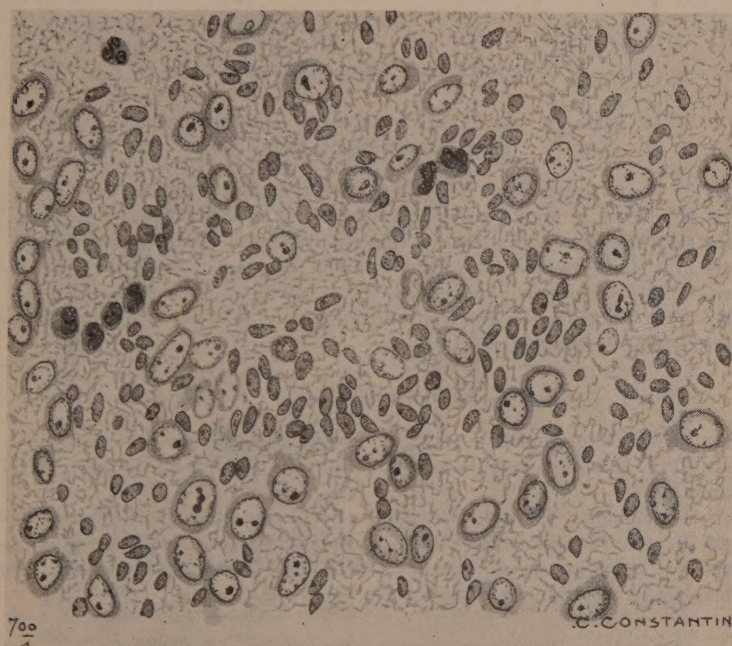


FIG. 2. — Poussin inoculé dans le cerveau. Mort le septième jour. Encéphale. Toxoplasmes libres. Gross. : 700/1.

ont acquis une virulence telle, qu'inoculées dans le cerveau de la souris elles provoquent une encéphalite aiguë tuant l'animal en huit à dix jours. Il n'en était pas de même au début de nos recherches, alors que les Toxoplasmes venaient à peine d'être isolés. Si quelques rares souris inoculées par voie intracranienne succombaient du vingtième au vingt-troisième jour, par contre, la majorité survivaient. Or, sacrifiées longtemps après l'inoculation, ces animaux se montraient atteints d'altérations névraxiques et *porteurs de germes*. Il en fut ainsi de neuf souris sacrifiées les trente et un, trente-cinq, trente-six,

quarante-neuf, soixante et un, cent et *cent soixante-cinq jours*. Les modifications histologiques (inflammation chronique des plexus, nodules monocytaires, méningite accompagnée de péri-vascularite) étaient parfois si intenses et si généralisées, que l'on se demandait comment de tels animaux pouvaient vivre ayant une apparence de parfaite santé (*Cf.* page 733).

Voici quelques protocoles venant à l'appui de ce qui précède :

#### Inoculation intracérébrale.

##### SÉRIE IV. — Souche entretenue depuis six mois (passages cérébraux) [lapin].

Souris I : Morte le huitième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris II : Morte le neuvième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris III : Morte le dixième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris IV : Morte le treizième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris V : Morte le treizième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris VI : Sacrifiée le *trente et unième jour*. Lésions chroniques. Parasites, ++++. Passages positifs.

##### SÉRIE I. — Souche venant d'être isolée de l'encéphale du lapin.

Souris I : Morte le vingtième jour. Lésions intenses. Parasites, ++++.  
Souris II : Morte le vingt-troisième jour. Absence de lésions. Kystes parasitaires.  
Souris III : Sacrifiée le *trente-sixième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++.  
Souris IV : Sacrifiée le *trente-sixième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++.  
Souris V : Sacrifiée le *soixante et unième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++. Passage sur le lapin, rés., +.

##### SÉRIE II. — Souche récemment isolée de l'encéphale du lapin.

Souris I : Sacrifiée le *trentième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++++.  
Passage positif.  
Souris II : Sacrifiée le *trente-cinquième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++.  
Souris III : Sacrifiée le *quarante-neuvième jour*. Résultat négatif.  
Souris IV : Sacrifiée le *quarante-neuvième jour*. Lésions manifestes. Absence de parasites.  
Souris V : Sacrifiée le *centième jour*. Lésions manifestes. Parasites, ++++.  
Passage positif.  
Souris VI : Sacrifiée le *cent soixante-cinquième jour*. Lésions manifestes. Kystes parasitaires. Passage positif.

*Inoculation intrapéritonéale.* — L'inoculation intrapéritonéale est moins fréquemment mortelle que l'injection du virus dans le cerveau. Les animaux font une infection à évolution



chronique ; lorsqu'on les sacrifie, on constate une forte hypertrophie de la rate. Celle-ci peut contenir des kystes parasitaires (*Schizontes*), mais peut aussi en être dépourvue, auquel cas l'inoculation du tissu splénique à des lapins fournit, cependant, des résultats positifs. Souvent, l'encéphale des souris inoculées dans le péritoine contient des parasites enkystés, situés au

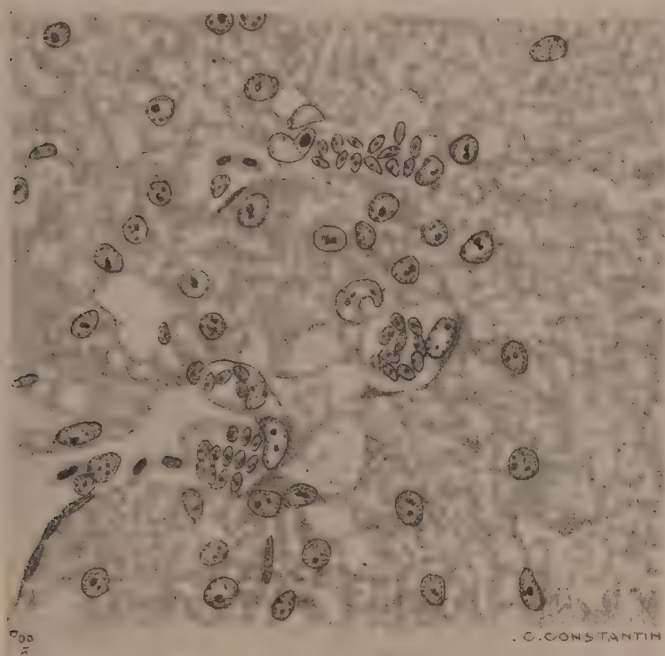


FIG. 3. — Embryon de poulet. Inoculation dans l'œuf fécondé au quatorzième jour. Sacrifié deux jours après l'éclosion. Présence de Toxoplasmes dans les cellules de Kupffer. Giemsa. Gross. : 700.

centre de nodules périvasculaires. L'un de nous [Lépine] (1) vient de relater des observations de souris dont le cerveau s'est montré infectieux plus de six mois après l'inoculation du virus dans le péritoine.

4° RATS. — Les rats se comportent comme les souris infectées par voie transcranienne avec une souche toxoplasmique

(1) P. Lépine. *C. R. Soc. de Biol.*, 400, 1929, p. 262.

récemment isolée : ils ne paraissent montrer aucun trouble nerveux, ont une apparence de parfaite santé, et cependant leur encéphale est parasité.

EXPÉRIENCE 5. — *Rat blanc* n° 1, inoculé par voie intracérébrale. Sacrifié le vingt-troisième jour. *Examen histologique du cerveau* : lésions inflammatoires intenses des plexus choroides, méningite à mononucléaires, nodules au voi-

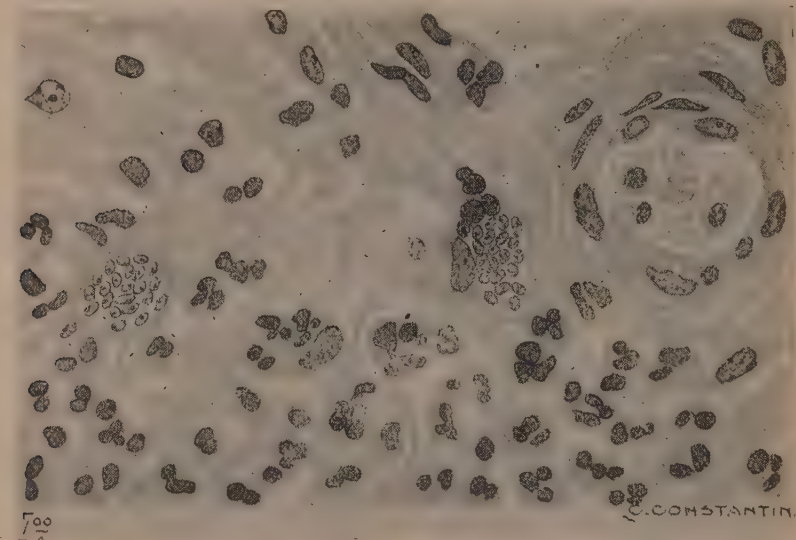


FIG. 4. — *Lapin 812 A*. Inoculation dans le nerf sciatique. Névrite aiguë et Toxoplasmes intra-cellulaires. Gross. : 700/1.

sinage des parois des ventricules latéraux. Nombreux kystes contenant des Toxoplasmes falciformes. Aucune altération de la rate, qui ne paraît pas parasitée. Passage de cerveau à cerveau sur le *lapin 743 B*. Ce dernier succombe d'encéphalite toxoplasmique le neuvième jour (frottis positifs). Inoculation d'une émulsion de rate au *lapin 742 B* : résultat négatif.

5° CHIEN. — Le chien n'est pas réceptif à l'égard des souches toxoplasmiques isolées par nous, quelle que soit la voie choisie pour l'inoculation (cerveau ou chambre antérieure). En voici un exemple :

EXPÉRIENCE 6. — *Chien blanc*. Injection intracérébrale de 1 cent. cube, émulsion névrauxique de lapin, contenant de nombreux Toxoplasmes. Aucun trouble apparent. L'animal est sacrifié le trente-septième jour. L'examen histologique de l'encéphale reste négatif. Passage de cerveau effectué sur les *lapins 348* et *349 B*. Ces animaux survivent indéfiniment.



6° SIMIENS INFÉRIEURS. — Il en est de même des simiens inférieurs. En effet, trois catarrhiniens, un *Cercopithecus pathas*, un *Papio sphynx* et un *Macacus rhesus* sont inoculés sans succès, par voie transcrânienne. Citons, à titre

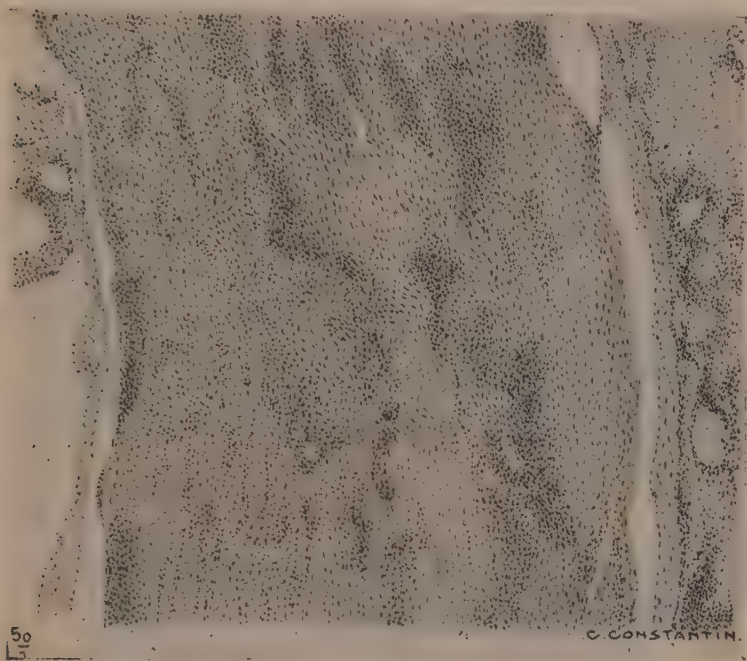


FIG. 5. — *Lapin 57 B*. Inoculation dans le sciatique.  
Altérations de névrite interstitielle. Gross. : 50/1.

documentaire, l'observation du dernier de ces simiens :

EXPÉRIENCE 7. — *Macacus rhesus* n° 5 est inoculé dans le cerveau avec une émulsion névraxique de lapin, contenant de nombreux *Toxoplasmes*. L'animal, bien portant, est sacrifié le dixième jour. Aucune lésion macroscopique du système nerveux, sauf une légère adhérence de la dure-mère à l'endroit de l'inoculation. Absence de parasites et d'altérations microscopiques. L'encéphale sert à préparer une émulsion qui est injectée, par voie transcrânienne, aux lapins 280 C et 282 C. Ces animaux survivent indéfiniment.

7° PIGEON. — Il avait été établi antérieurement (1) que le

(1) Cf. pour la littérature le Mémoire déjà cité de CHATTON et BLANC. *Annales de l'Institut Pasteur de Tunis*, 10, fasc. 1 et 2, 1917, p. 1.

pigeon est éminemment réceptif à l'égard du *Toxoplasma cuniculi*. Nos recherches confirment ce fait,

EXPÉRIENCE 8 (a). — Deux pigeons sont inoculés par voie intracérébrale. Ils succombent, après avoir montré de l'abattement, de l'instabilité, des paralysies, l'un le neuvième jour, l'autre le dixième jour. Chez ce dernier, l'encéphale contient de nombreux parasites et montre les altérations suivantes :

Cerveau : Méningite corticale à monocytes, altérations inflammatoires et

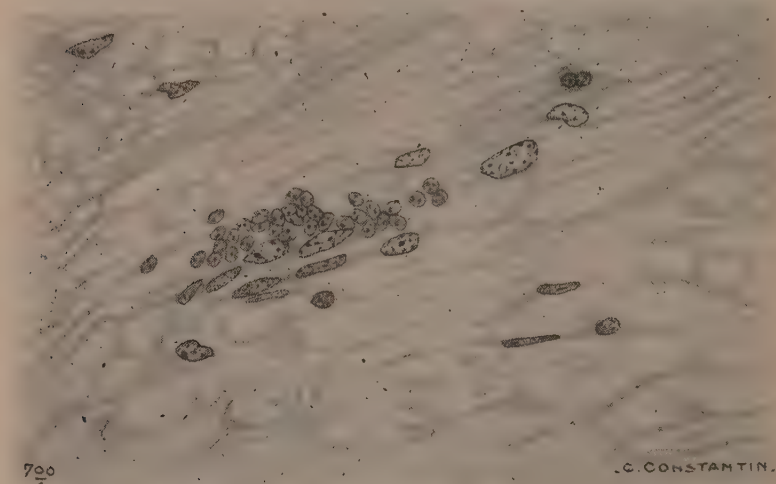


FIG. 5 bis. — Lapin 914 A. Nerf cranien. Névrite interstitielle avec présence de Toxoplasmes entre les fibres nerveuses. Gross. : 700/1.

dégénératives des plexus choroides, manchons périvasculaires; présence de nombreux Toxoplasmes libres dans les méninges corticales.

Moelle épinière : Méningite intense hémorragique, riche en mononucléaires, avec trainées de manchons périvasculaires le long des cordons antérieurs et postérieurs. Parasites abondants surtout dans les méninges enflammées.

Œil : Altérations accentuées de périnévrile optique (voy. page 709).

L'encéphale sert à faire un passage sur le lapin 185 D. Résultat positif (mort d'encéphalo-myélite toxoplasmique, le sixième jour).

Deux autres pigeons, inoculés de la même manière, mais plus tard, lorsque nos souches toxoplasmiques s'étaient mieux acclimatées au lapin, ont succombé le cinquième et le sixième jour, avec des altérations névrauxiques identiques à celles qui viennent d'être décrites.

*La sensibilité du pigeon vis-à-vis de la neuro-infection toxoplasmique est donc des plus accusées. Cette neuro-infection se manifeste par des troubles nerveux graves, par une riche*



pullulation parasitaire à siège encéphalo-médullaire et par des altérations microscopiques intéressant surtout les méninges

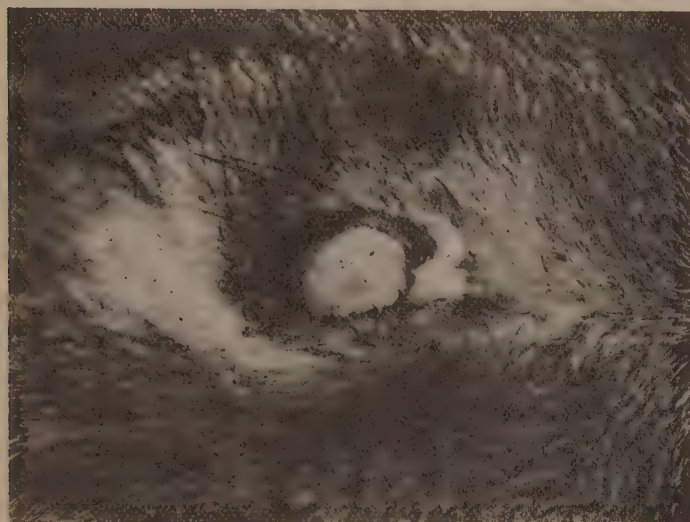


FIG. 6. — *Lapin 955 A.* Inoculation dans la chambre antérieure. Vingt-huit jours. Opacité de la cornée. Atrophie de l'œil.

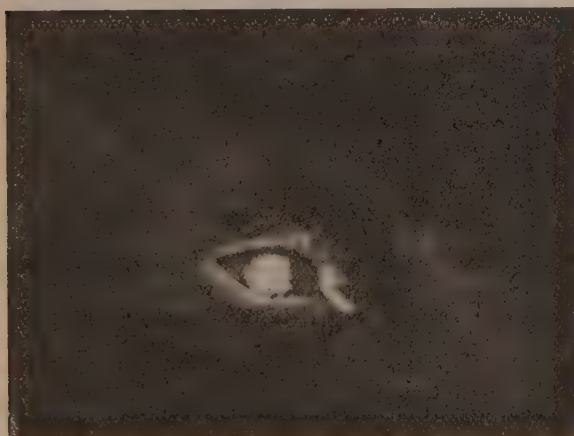


FIG. 7. — Atrophie de l'œil après inoculation de *Toxoplasmes* dans la chambre antérieure.

et ressemblant à celles observées chez la même espèce animale par Arantes (*loc. cit.* *Toxoplasma canis*)

8° POULE. — Par contre, la poule s'est montrée réfractaire, peu importe si l'inoculation intracérébrale était pratiquée avec nos souches de virus provenant de lapins, ou de poussins morts d'encéphalo-myéélite.

EXPÉRIENCE 9. — *Virus : encéphale de lapin.*

*Coq n° 11* : survit dix-neuf jours. Aucun trouble morbide.

*Coq n° 10* : mort le septième jour. Absence de lésions et de parasites.

*Virus : encéphale de poussin* (parasites, + + + +).

*Coq n° 7* : mort le dixième jour. Absence de lésions et de parasites. Passages négatifs sur le *lapin 731 B* et sur le *coq n° 12*.

*Coq n° 50* : survit.

9° POUSSIN. — L'état réfractaire de la poule adulte est remplacé, chez le poussin à peine éclos de l'œuf, par une réceptivité des plus accusées. L'inoculation de *Toxoplasmes*, par voie intracérébrale, provoque la mort des animaux en quatre, cinq, six ou sept jours, après une période d'abattement et un état parétiq ue généralisé.

EXPÉRIENCE 10. — *Inoculation transcranienne, virus encéphalique de lapin ou de poussin.*

*Poussin 1* : mort le quatrième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 2* : mort le cinquième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 3* : mort le septième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites. Passages positifs sur des poussins.

*Poussin 4* : mort le cinquième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites. Passages positifs sur des poussins.

*Poussin 5* : sacrifié le quatrième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 6* : sacrifié le quatrième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 7* : sacrifié le cinquième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 8* : mort le sixième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 9* : mort le quatrième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

*Poussin 10* : mort le cinquième jour. Lésions cérébrales intenses, riches en parasites.

L'examen histologique du névraxe révèle des altérations intenses, localisées non seulement dans l'encéphale, mais encore dans la moelle épinière. Ainsi, chez les poussins 1 et 2, nous avons décelé des lésions accusées surtout autour du canal épendymaire (prolifération des épithéliums de l'épendyme et infiltration monocytaire des parois ventriculaires). Des nodules étaient disséminés dans toute l'écorce cérébrale. Manchons périvasculaires.



très marqués. Les plexus sont le siège d'une inflammation à monocytes, les ventricules sont manifestement dilatés. Très nombreux Toxoplasmes, pour la plupart intracellulaires (fig. 2).

L'encéphale de certains de ces poussins nous a servi pour

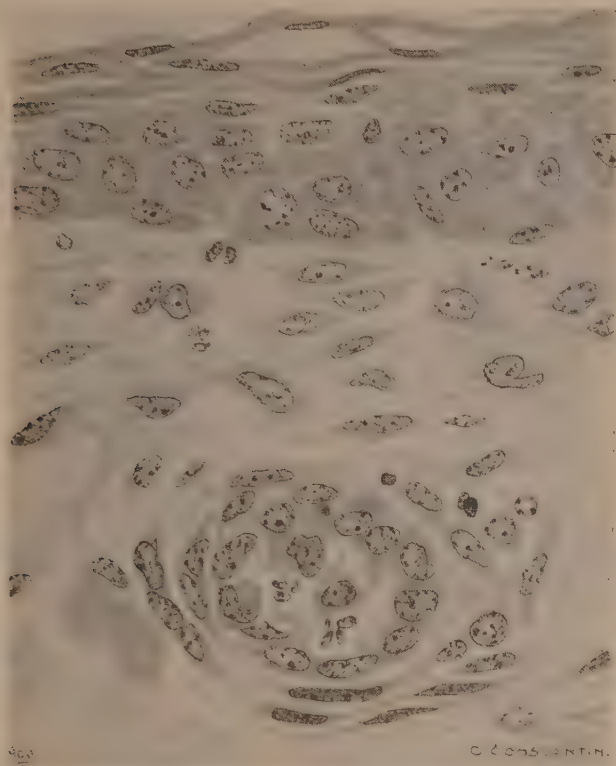


FIG. 8. — Lapin 955 A. Inoculation dans la chambre antérieure. Cornée. Prolifération de l'épithélium cornéen et formation d'un globe épithélial. Au centre de ce globe, présence de quelques Toxoplasmes. Gross. : 900/1.

nos essais de culture des Toxoplasmes en présence d'éléments cellulaires *in vitro*.

10° EMBRYONS DE POULET. — Borrel a montré en 1907 qu'il était possible de conférer la spirillose des poules (*Spirochaeta gallinarum*, Marchoux et Salimbeni) aux embryons de poulet, par inoculation de virus dans l'œuf fécondé. Cette technique a

été appliquée par l'un de nous [Levaditi (1)] à l'étude des lésions spirochéliennes des embryons, dans leurs rapports avec les altérations similaires de la syphilis héréditaire. Récemment, Anderson (2) s'en est servi pour récupérer la virulence du

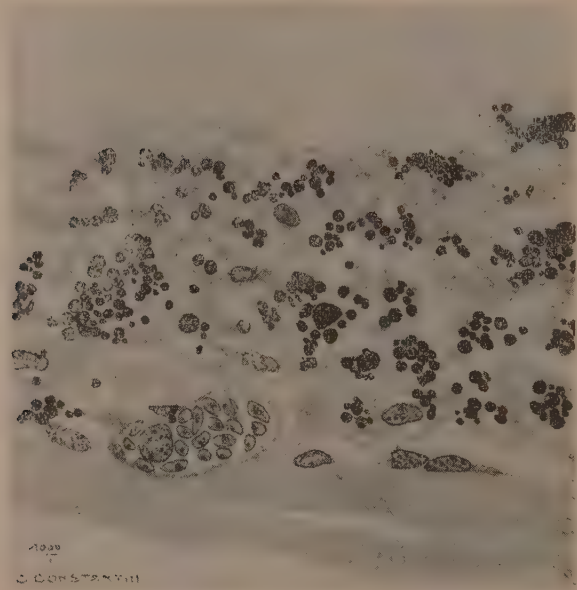


Fig. 9. — *Lapin 947 A*. Inoculation dans la chambre antérieure. Vingtème jour. Toxoplasmes dans une cellule de bordure (procès ciliaires).

*Spirochaeta gallinarum* (inoculation d'émulsions d'*Argas persicus* dans l'œuf fécondé).

Nous avons entrepris des essais analogues avec nos souches de *Toxoplasma cuniculi*. Des émulsions cérébrales de lapin, riches en parasites, étaient inoculées dans l'œuf fécondé au neuvième et au quatorzième jour de l'incubation. Les résultats de l'expérience étaient vérifiés soit en ouvrant l'œuf quelques jours après l'injection, lorsqu'il s'agissait de jeunes embryons, soit en attendant l'éclosion, dans le cas d'embryons

(1) LEVADITI. Ces *Annales*, 20, 1906, p. 924.

(2) ANDERSON. *C. R. Soc. Biol.*, 99, 1928, p. 378.



infectés au quatorzième jour. Voici les protocoles de nos expériences :

SÉRIE I. — *Age de l'embryon : quatorze jours.*

Embryon n° 1 : Éclosion normale. Poussin vivant. Mort deux jours après l'éclosion. *Frottis* : cerveau, +++ ; rate, +++ ; foie, +++.

Embryon n° 2 : Éclosion normale. Poussin vivant. Mort deux jours après l'éclosion. *Frottis* : cerveau, ++ ; foie, ++ ; rate, parasites enkystés.

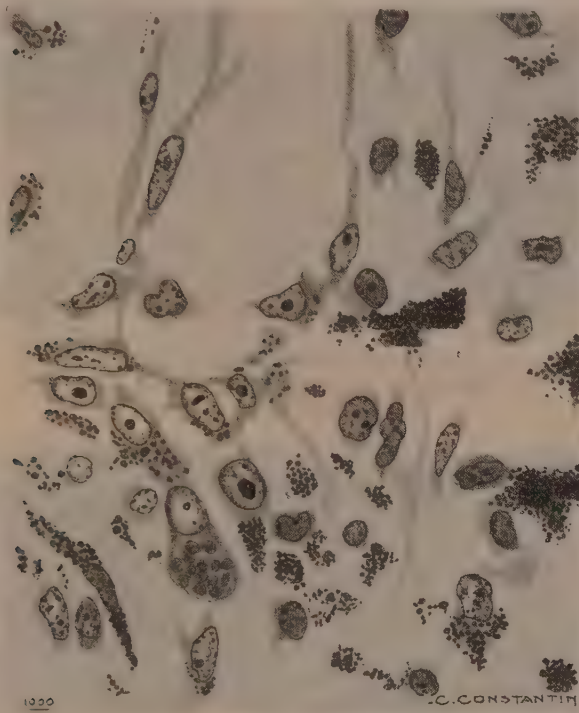


FIG. 10. — *Lapin 947 A.* Inoculation dans la chambre antérieure. Toxoplasmes intracytoplasmiques dans la choroïde. Gross. : 1000/1.

Embryon n° 3 : Éclosion normale. Poussin vivant. Mort quatre jours après l'éclosion. *Frottis* : cerveau, ++.

Embryon n° 4 : Éclosion normale. Poussin vivant. Mort quatre jours après l'éclosion. *Frottis* : cerveau, +++ ; rate, +++ ; foie, +++.

Embryon n° 5 : Éclosion normale. Poussin vivant. Mort cinq jours après l'éclosion. *Frottis* : cerveau, +++ ; rate, +++ ; foie, +++.

Cette expérience prouve que lorsqu'on inocule des *Toxoplasmes* à des embryons de poulet âgés de quatorze jours, l'éclo-

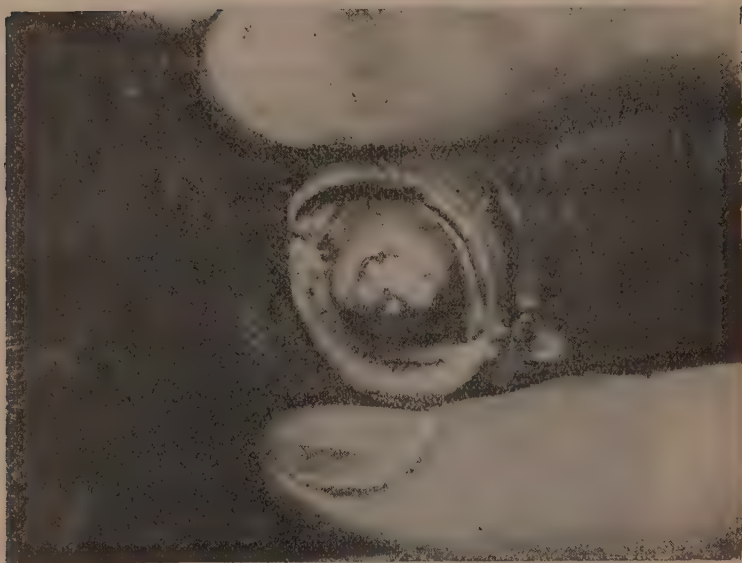


FIG. 11. — *Lapin 226 B.* Inoculation dans la chambre postérieure. Macrophtalmus et exophthalmie. Kératite et panus



FIG. 12. — *Lapin 226 B.*  
Inoculation dans la chambre postérieure. Exophthalmie.

sion s'opère normalement le vingt et unième jour. Les poussins sortent de l'œuf infectés et succombent du deuxième au cinquième jour. L'examen des frottis permet de déceler des parasites en grand nombre dans le cerveau, la rate et le foie.

SÉRIE II. — Age de l'embryon au moment de l'inoculation : neuf jours.

Embryon n° 1 (seize jours) : Œuf ouvert sept jours après l'inoculation.  
Poussin vivant. Frottis : cerveau, +++ ; rat, +++ ; foie, +++ ; sang, ++.

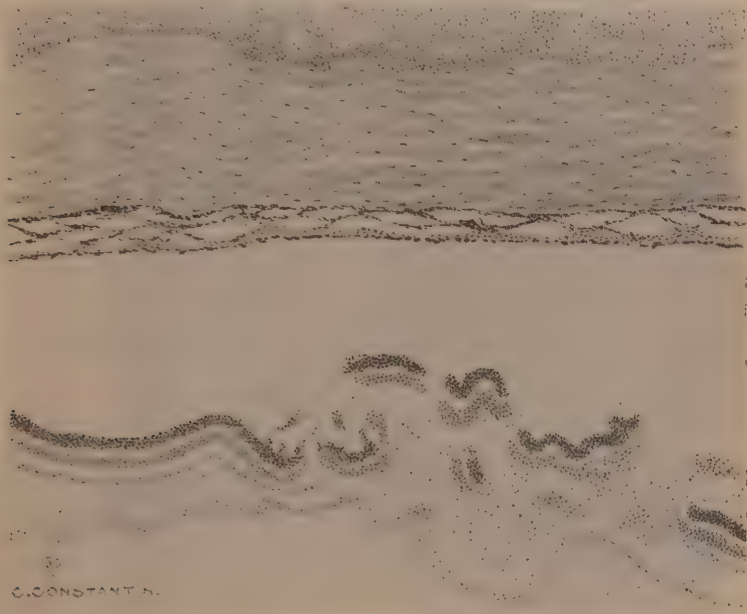


FIG. 13. — Lapin 55 B. Inoculation dans la chambre postérieure  
Décollement et altérations de la rétine. Gross. : 70/1.

Embryon n° 2 (dix-huit jours) : Œuf ouvert neuf jours après l'inoculation.

Poussin vivant. Frottis : cerveau, ++ ; rate, +++ ; foie, +++ ; sang, +++.

Embryon n° 3 (vingt et un jours) : Œuf ouvert douze jours après l'inoculation. Poussin vivant. Frottis : cerveau, ++ ; rate, ++ ; foie, ++.

Embryon n° 4 (vingt et un jours) : Œuf ouvert douze jours après l'inoculation.

Poussin vivant. Frottis : cerveau, ++ ; rate, ++ ; foie, ++ ; sang, 0.

Il résulte de ce protocole que l'inoculation de *Toxoplasmes* à des embryons âgés de neuf jours détermine l'infection de ces embryons, lesquels peuvent survivre au moins sept à douze jours. L'examen des frottis montre la présence de nom-



breux parasites dans le foie, la rate, le cerveau, et de rares *Toxoplasmes* dans le sang circulant. Ces derniers sont, pour la plupart, inclus dans le cytoplasme des leucocytes; cependant, certains paraissent circuler librement dans le plasma (V. Planche IX, fig. 4). Cette pullulation des parasites dans le

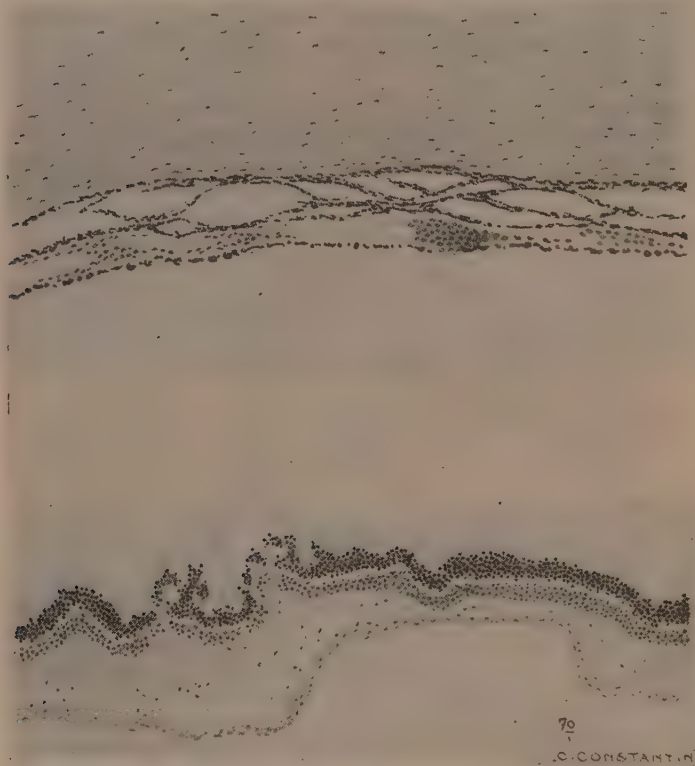


FIG. 14. — *Lapin 55 B.* Inoculation dans la chambre postérieure. Décollement de la rétine. Gross. : 50/l.

sang semble particulière à l'infection toxoplasmique des embryons de poulet; en effet, nous ne l'avons jamais constatée chez aucune des autres espèces animales susceptibles de contracter la toxoplasmose.

Quant aux lésions histologiques des organes, les voici, en résumé :

*Embryon infecté au quatorzième jour; mort deux jours après l'éclosion. —*

Nodules parasitaires typiques dans l'encéphale; dégénérescence graisseuse des cellules hépatiques et présence de Toxoplasmes abondants dans le cytoplasma des cellules de Kupffer; inflammation monocytaire de l'épiploon, avec siège intra-macrophagique des parasites (fig. 3).

*Embryon infecté le neuvième jour. Ouverture de l'œuf neuf jours après l'inoculation.* Mêmes constatations que chez l'embryon précédent; au surplus, autolyse intense des cellules hépatiques. Les parasites sont encore recon-

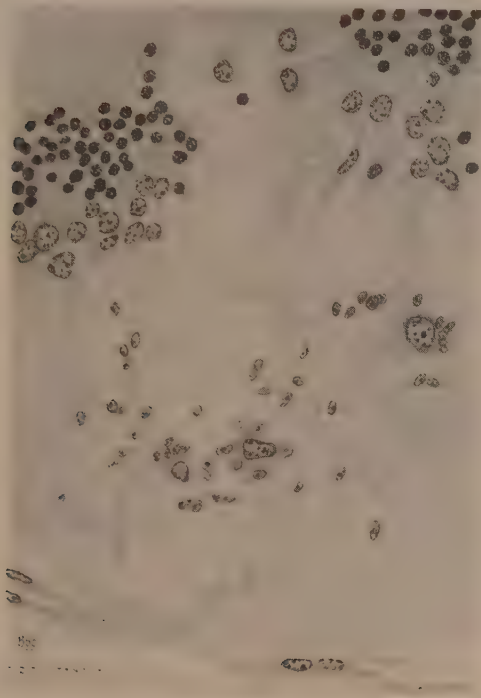


FIG. 45. — *Lapin 55 B.* Inoculation dans la chambre postérieure.  
13<sup>e</sup> jour. Toxoplasmes libres dans la rétine.

naissables dans le protoplasma des cellules de Kupffer, mais leur aspect diffère de celui des Toxoplasmes habituels : ils sont arrondis, pourvus de trois à quatre corpuscules chromatiques et se colorent faiblement (*corps leishmaniformes*).

En résumé, ce qui frappe dans ces résultats, c'est d'abord l'intensité des altérations et la richesse en Toxoplasmes de l'épiploon et du foie. Ceci semble prouver que le virus, introduit dans le réseau capillaire de l'altoïde, s'attaque d'abord à l'organe qui le premier se trouve apte à le recevoir, en l'occur-

rence le foie. De là, il se propage dans tout l'organisme, utilisant, comme véhicule, la circulation sanguine. Aucun organe n'y échappe, pas même le névraxe. Ensuite, il est intéressant de constater que lorsque l'embryon infecté succombe dans l'œuf

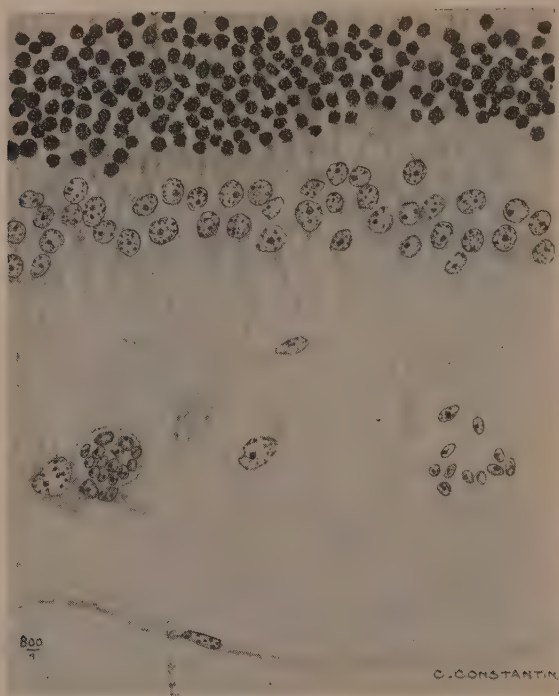


FIG. 46. — *Lapin 55 B*. Toxoplasmes libres ou inclus dans le cytoplasme d'un neurone. Rétine.

il subit une macération, se traduisant par l'autolyse des éléments cellulaires, en particulier ceux du foie. Cette macération offre plus d'une similitude avec celle que l'on observe chez les fœtus hérédosyphilitiques mort-nés et chez les embryons de poule inoculés avec le *Spirochaeta gallinarum* (Cf. Levaditi, *loc. cit.*).



## CHAPITRE IV

## Voies de pénétration du virus.

## 1° VOIE INTRACÉRÉBRALE.

Les centres nerveux se prêtent le mieux à la pénétration du virus dans l'organisme. Ils constituent un milieu de choix, quelle que soit la souche toxoplasmique utilisée et l'espèce animale à laquelle on s'adresse. Qu'il s'agisse de lapin, de cobaye, de pigeon, de souris ou de jeunes poussins, l'inoculation d'une quantité donnée de matériel virulent dans l'encéphale déclenche presque constamment une encéphalo-myélite plus ou moins rapidement mortelle. Les rares animaux (lapins) qui y échappent se montrent, pour la plupart, réfractaires, lors d'une inoculation d'épreuve pratiquée ultérieurement. Par ailleurs, même lorsque l'infection a lieu par une voie autre que celle du névraxe, celui-ci s'en ressent constamment : le cerveau, le bulbe ou la moelle offrent, en effet, des altérations caractéristiques et contiennent des parasites décelables directement, ou par inoculation à des lapins neufs.

## 2° NERFS PÉRIPHÉRIQUES.

Lorsque l'inoculation est pratiquée, non pas dans le cerveau, mais dans un nerf périphérique, tel le sciatique, elle occasionne une névrite inflammatoire intense. Toutefois, il n'y a pas, dans ce cas, propagation du virus vers la moelle épinière le long de l'arc neuro-ganglionnaire [*Neuroprobasie*, Levaditi (1)]. L'infection reste localisée quant aux nerfs, tout en se généralisant par d'autres voies, ainsi que le prouvent les altérations disséminées du système nerveux central et la virulence du névraxe. En voici une démonstration expérimentale :

EXPÉRIENCE 10. — *Lapin 812 A.* Inoculation d'une émulsion cérébrale riche en *Toxoplasmes* dans le *nerf sciatique droit*. Suppuration intense au point d'in-

(1) LEVADITI, *Herpès et Zona*, Paris, Masson, éditeur, 1925.

jection. L'animal succombe le quatorzième jour. Hypertrophie de la rate. Passage de cerveau à cerveau au *lapin 910 A*. Encéphalite toxoplasmique typique le dix-septième jour (fig. 4).

*Lapin 57 B*. — Inoculation virulente dans le *nerf sciatique droit*. Suppuration au point d'injection. L'animal maigrit, mais ne montre pas de symptômes nerveux manifestes. Sacrifié le trente-neuvième jour.

*Examen histologique*. — *Cerveau* : légers manchons périvasculaires du cor-

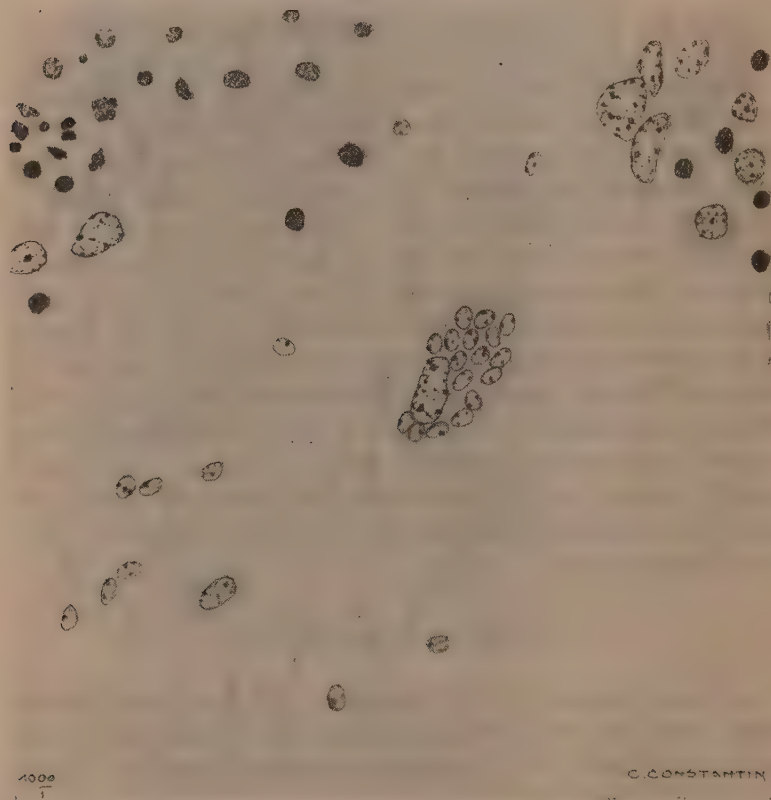


FIG. 17. — *Lapin 55 B*. Inoculation dans la chambre postérieure. Rétine. Toxoplasmes dans un neurone rétinien. Gross. : 1000/1.

tex et petites plaques de méningite corticale. *Bulbe* : même périvascularite et nodules constitués par des grosses cellules granulo-adipeuses, en pleine substance blanche. *Sciatique droit* : altérations très intenses de névrite interstitielle, se traduisant par une accumulation des lymphocytes, de plasmacytes et de cellules granulo-adipeuses vacuolaires, constituant des îlots périvasculaires (fig. 5). Ces altérations offrent des caractères nettement prolifératifs. Cellules géantes dans la gaine enflammée du nerf sciatique. *Moelle dorsale, cervicale et lombaire; ganglions rachidiens lombaires* : absence de lésions.





FIG. 18. — *Lapin 55 B*. Inoculation dans la chambre postérieure. Toxoplasmes dans les cellules pigmentaires sous-rétiniennes. Gross. : 800/1.

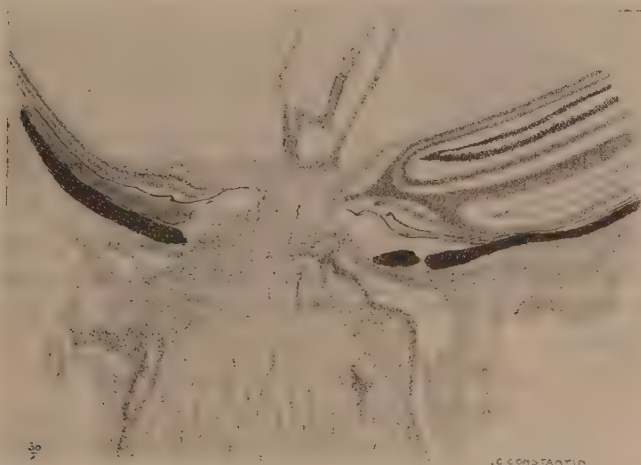


FIG. 19. — *Pigeon 96*. Inoculation intracérébrale. Névrite et périnévrite optique. Neuroprobasie centrifuge des Toxoplasmes. Gross. : 30/1.

Contrairement aux *ultravirus neurotropes* (rage, encéphalite, herpès, poliomyélite) et au neurovaccin, lesquels, inoculés

dans le nerf sciatique, réalisent le phénomène de la *Neuroprobisie*, le virus toxoplasmique ne se propage pas le long des filets nerveux pour se diriger vers les ganglions rachidiens et la moelle. Et, cependant, la *neuroprobisie* apparaît nettement lorsqu'on envisage des nerfs autres que le sciatique [*nerf optique, nerfs de la base du crâne* (fig. 5 bis) (voy. page 686)]. Il est probable que, dans le cas particulier du sciatique, l'in-

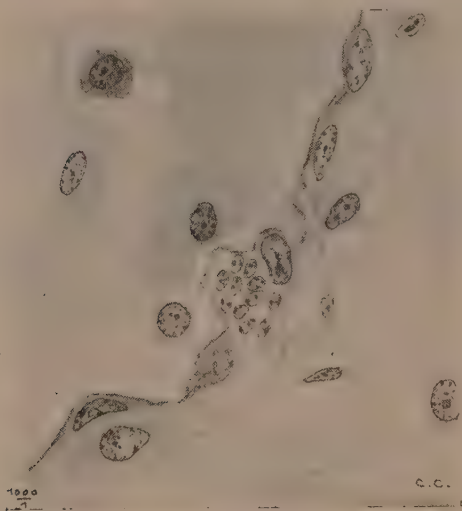


FIG. 20. — *Lapin 542 D.* Ventricule latéral. Toxoplasmes dans le cytoplasme d'une cellule épendymaire. Gross. : 1000/1.

tensité de l'inflammation locale réalise des conditions défavorables à la *neuroprobisie* des Toxoplasmes, tout en permettant la généralisation du virus par des voies différentes de celle du nerf intéressé.

### 3° VOIE INTRAOCULAIRE (1).

La ressemblance frappante entre le *Toxoplasma cuniculi* présent dans certaines formes chroniques de l'encéphalite toxoplasmique du lapin et les kystes parasitaires découverts par

(1) LEVADITI, SCHOEN et SANCHIS-BAYARRI. *C. R. Soc. biol.*, 98, 1928, p. 1414.

Janků (1) [voy. page 674] dans la rétine d'un enfant hydrocéphalique nous a incités à étudier expérimentalement les altérations oculaires provoquées par ce *Toxoplasma* chez le lapin. Nous nous sommes servis d'émulsions cérébrales riches en para-



FIG. 21. — *Lapin 690 A* Aqueduc de Sylvius. Prolifération des cellules épendymaires. Exsudation fibrino-leucocytaire dans la lumière du canal. Nodule parasitaire au voisinage de l'aqueduc. Gross. : 90/1.

sites, que nous avons injectées soit dans la chambre antérieure, soit dans la chambre postérieure de l'œil. Par ailleurs, nous avons essayé de préciser le mode de propagation de l'infection de l'encéphale vers le globe oculaire et *vice versa*. Voici ce que nous avons constaté :

(1) JANKŮ, *Casopis lekaruv ceskych*, 62, n° 39-43, p. 215. LEVATIDI, *C. R. Soc. biol.*, 68, 1928, p. 297.



a) INOCULATION DANS LA CHAMBRE ANTÉRIEURE. — Neuf expériences ; six lapins sont morts du treizième au vingtième jour, trois animaux ont été sacrifiés du quinzième au trente-troisième jour. Rien de bien particulier au début, si ce n'est une exsudation blanchâtre dans la chambre antérieure. Vers le sixième ou le septième jour, conjonctivite, opacité de la cornée,

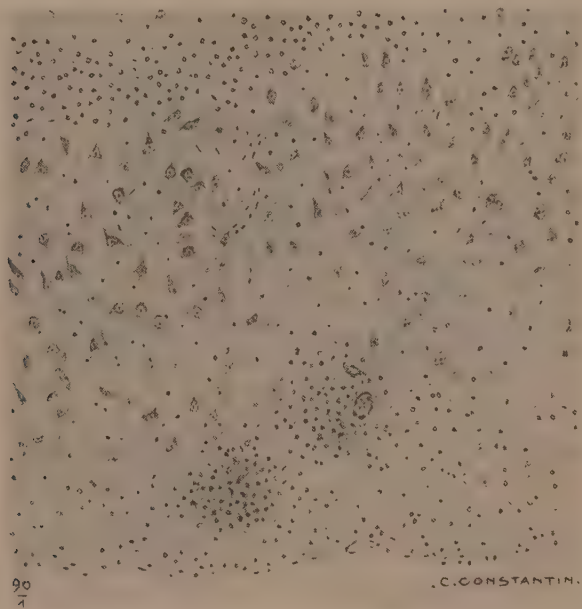


FIG. 22. — *Lapin 542 A.* Inoculation intracérébrale. Foyers parasitaires au voisinage du plancher du 4<sup>e</sup> ventricule. Gross. : 90/1.

exophtalmie intense. A ce moment, M. Mawas fait le diagnostic suivant : « Iridocyclite avec occlusion pupillaire ; humeur aqueuse trouble, avec exsudat dans la chambre antérieure ; hypertension considérable ; la cornée est opaque mais nullement enflammée. » Ces modifications évoluent vers l'ulcération centrale de la cornée et l'atrophie du globe oculaire. En effet, chez un de nos lapins examinés le trentième jour, M. Mawas constate : « Œil en voie d'atrophie ; vascularisation de la périphérie de la cornée, laquelle est insensible ; iridocyclite à la phase terminale » (fig. 6 et 7).

Le tableau I résume les principaux résultats de nos expériences :

TABLEAU I. — **Inoculation**  
de *Toxoplasma cuniculi* dans la chambre antérieure de l'œil (lapin).

NUMÉRO du lapin	RÉSULTATS	SORT DE L'ANIMAL
935 A	Iridocyclite, panus, microphthalmie.	Survit 33 jours.
947 A	Iridocyclite.	Mort le 20 <sup>e</sup> jour.
86 B	Conjonctivite, kératite, ulcération centrale de la cornée, ectopyon.	Sacrifié le 15 <sup>e</sup> jour.
87 B	Iridocyclite, exophtalmie.	Sacrifié le 15 <sup>e</sup> jour.
191 B	Iridocyclite.	Mort le 40 <sup>e</sup> jour.
192 B	Conjonctivite, exophtalmie, opalescence du cristallin, dilatation pupillaire considérable.	Mort le 23 <sup>e</sup> jour.
194 B	Conjonctivite, opacité de la cornée, début d'iridocyclite.	Mort le 17 <sup>e</sup> jour.
215 B	Iridocyclite, opalescence totale de la cornée, panus, atrophie de l'œil.	Mort le 26 <sup>e</sup> jour.
218 B	Iridocyclite.	Mort le 11 <sup>e</sup> jour.

*Examen histologique. Pôle antérieur.* — L'épithélium cornéen est en partie desquamé. La cornée elle-même est partiellement nécrosée et infiltrée par des polynucléaires caryolysés et de rares mononucléaires. Vascularisation intense vers le limbe, détachement partiel de la membrane de Descemet; exsudation séro-fibrineuse dans la chambre antérieure. L'iris et les procès ciliaires sont fortement altérés : inflammation aiguë, exsudat fibrino-cellulaire, thrombose vasculaire, desquamation de l'épithélium de bordure (fig. 9). Si les Toxoplasmes sont rares dans la cornée, par contre, dans l'iris et les procès ciliaires, les parasites sont plus nombreux, inclus dans les macrophages périvasculaires ou dans les épithéliums de bordure (fig. 10). Ces lésions ont été constatées dans les neuf cas

examinés. *L'iridocyclite est donc constante après inoculation du TOXOPLASMA CUNICULI dans la chambre antérieure.*

*Pôle postérieur.* — Dans trois cas sur neuf, l'infection s'est propagée du pôle antérieur vers le fond de l'œil. Elle a provoqué une exsudation séro-fibrineuse dans la chambre postérieure, contenant de rares monocytes parasités. De plus, une exsuda-

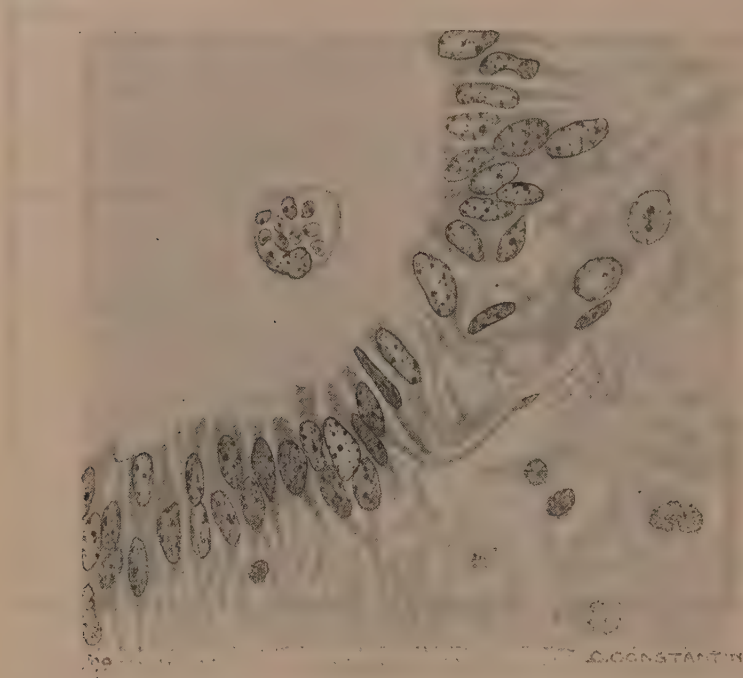


FIG. 23. — *Lapin 965 A. Moelle cervicale. Toxoplasmes intracellulaires dans le canal épendymaire. Gross. : 700/1.*

tion analogue s'est insinuée le long de la face postérieure de la rétine, d'où le décollement de celle-ci. Au niveau de la papille et du nerf optique, nous avons constaté des manchons périvasculaires et une prolifération des cellules de la gaine de Schwann (*début de névrite optique*):

*En résumé, l'inoculation des Toxoplasmes dans la chambre antérieure détermine une iridocyclite aiguë avec exophtalmie et propagation de l'infection vers le pôle postérieur, aboutissant, parfois, à une névrite optique.*



Dans les cas à évolution chronique (trente-trois jours, atrophie du globe oculaire), la cornée est le siège de lésions de kératite interstitielle diffuse néo-vascularisée; l'épithélium montre des signes de prolifération (globes épithéliaux dans les couches cornéennes superficielles) (fig. 8). L'iris et les procès ciliaires offrent des modifications régénératives (fibroblastes);

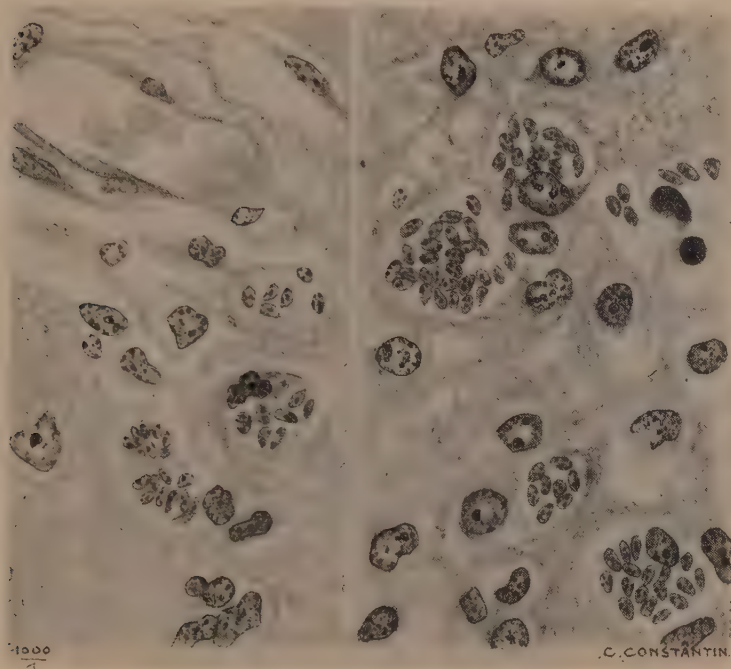


FIG. 24. — *Lapin 501 A*. Encéphale. Nodules parasitaires périvasculaires. Toxoplasmes contenus dans les vacuoles cytoplasmiques (microglie). Gross. : 1.000/1.

on y découvre des Toxoplasmes falciformes enkystés (Schizontes). Les kystes ressemblent à ceux décrits par Jankú (voir ci-dessus).

*b) INOCULATION DANS LA CHAMBRE POSTÉRIEURE.* — L'inoculation du virus toxoplasmique dans la chambre postérieure détermine, généralement, une légère conjonctivite et de l'exophtalmie. Celle-ci devient très accentuée vers le trentième

jour. L'œil revêt une forme conique, la cornée se nécrose vers sa partie centrale, le cristallin devient opaque (cataracte) (fig. 11 et 12). Des trois animaux inoculés de cette manière, l'un est mort le treizième jour (frottis de rate : positifs), l'autre a succombé le dix-huitième jour (passage de cerveau à cerveau : positif), le troisième a survécu et s'est montré, par la suite,

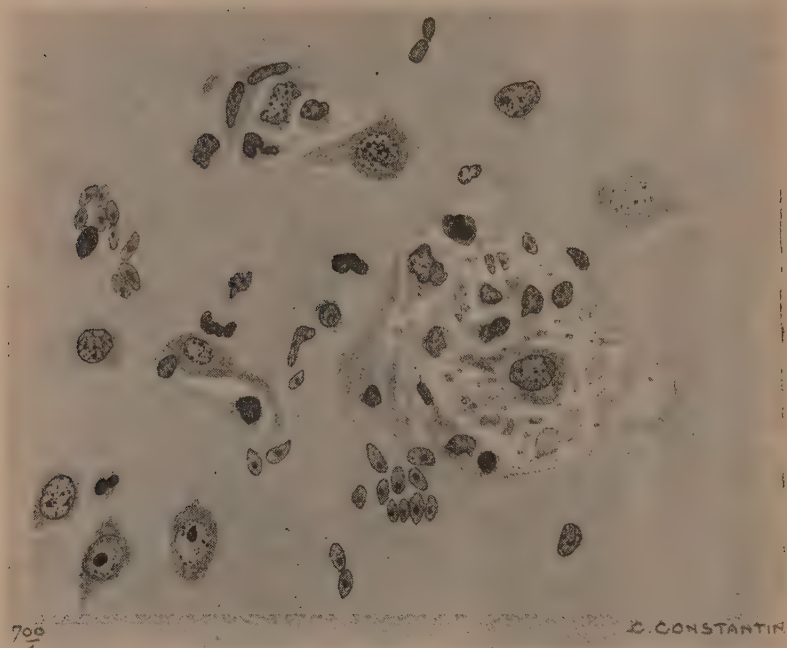


FIG. 25. — *Lapin 812 A*. Encéphale.  
Nodule parasitaire partiellement nécrosé. Toxoplasmes libres. Gross. : 700/1.

réfractaire à l'égard des deux inoculations intracérébrales d'épreuve, pratiquées ultérieurement (Cf. Chapitre *Immunité*, second Mémoire).

*Examen histologique.* — Les altérations rétiniennes (fig. 13 et 14) sont infiniment plus intenses lorsque l'inoculation est pratiquée dans la chambre postérieure, où l'on constate une abondante exsudation fibrino-leucocytaire contenant des macrophages parasités. Ceux-ci s'accroissent à la surface de la rétine, s'infiltrant dans le tissu rétinien et arrivent au contact de la

couche des grains. Il y en a, parmi eux, qui éclatent, d'où une libération des toxoplasmes amiboïdes, lesquels s'insinuent au loin dans la rétine (fig. 15). Certains neurones rétiniens se contaminent, auquel cas ils apparaissent farcis de parasites enkystés (fig. 16 et 17). Les kystes intracytoplasmiques rejettent vers la périphérie le noyau de la cellule nerveuse. Certains de ces kystes, à membrane nettement apparente, rappellent les kystes rétiniens

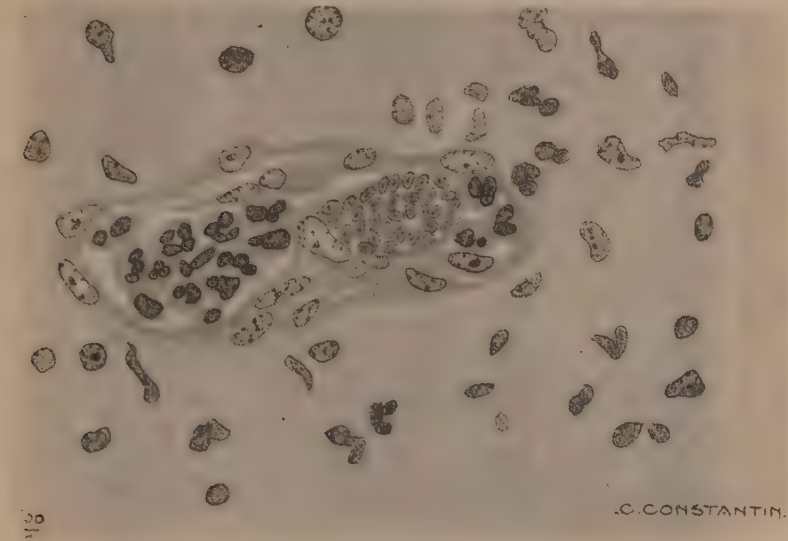


FIG. 26. — *Lapin 975 A. Encéphale.*  
Vaisseau avec Toxoplasmes dans les cellules endothéliales. Gross. : 700/1.

de l'enfant hydrocéphale étudié par Jankù. Ajoutons que les cellules pigmentaires sous-rétiniennes peuvent contenir de nombreux Toxoplasmes (fig. 18).

c) PROPAGATION DE LA TOXOPLASMOSE AU NIVEAU DE L'ŒIL. — Dans cinq de nos expériences, le cerveau était le siège d'altérations manifestes : méningite monocyttaire corticale et nodules circonscrits, constitués par des lymphocytes et des cellules microgliales contenant des Toxoplasmes. S'agissait-il d'une propagation de l'infection oculaire vers l'encéphale, le long du nerf optique (*neuroprobiasie centripète*) ? Les altérations cons-



tatées au niveau de la rétine et du nerf optique semblent l'indiquer. Toutefois, le fait que la rate était parasitée nous incite à faire quelques réserves à ce sujet, les altérations cérébrales



FIG. 27. — *Lapin 596 A*. Encéphale. Dilatation du ventricule latéral ; lésions inflammatoires des plexus choroïdes et nodules parasitaires. Gross. : 90/1.

pouvant aussi bien être le résultat d'une infection hématogène du névraxe. Par contre, la *neuroprophasia centrifuge* paraît démontrée. En effet, chez trois lapins et un pigeon infectés par voie intracérébrale et morts d'encéphalite toxoplasmique

du huitième au dixième jour, nous avons constaté la propagation du processus infectieux du cerveau vers l'œil, le long du nerf optique. Les gaines périnerveuses étaient infiltrées par des monocytes et des polynucléaires; çà et là on constatait des *Toxoplasmes* libres ou inclus dans les cellules fixes. Les lésions

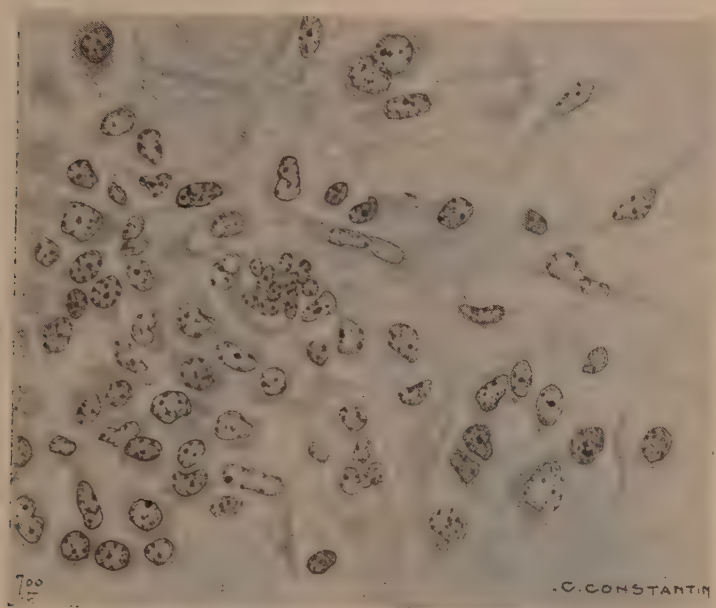


FIG. 28. — *Lapin 290 B.* Inoculation intracérébrale. Sacrifié 46 heures après l'inoculation. Lésions incipientes. *Toxoplasmes* dans un gros monocyte. Gross. : 700/1.

suivaient le trajet du nerf pour arriver au contact de la *macula lutea* (fig. 49).

*Il est donc avéré que le processus infectieux toxoplasmique peut se propager de l'encéphale vers le fond de l'œil en suivant les gaines du nerf optique. C'est là un fait important, si on le rapproche des constatations de Janků concernant l'hydrocéphalie congénitale humaine. Il est fort probable que chez l'enfant la protozoose encéphalique s'est transmise à la rétine par les gaines périnerveuses du nerf optique.*

## 4° VOIE INTRACUTANÉE.

L'inoculation intradermique d'émulsion cérébrale, riche en Toxoplasmes, détermine, chez le lapin, l'éclosion de nodules



FIG. 29. — Neuroprotozooses. (Voir l'explication dans le texte, p. 729.)

indurés, lesquels s'entourent d'une zone inflammatoire de dimensions variables. Ces nodules augmentent progressivement de volume, puis se résorbent petit à petit. Il n'y a pas formation de pustules, ni d'ulcération. Certains lapins peuvent survivre, auquel cas ils acquièrent l'état réfractaire (voy. Chapitre *Immunité*, second Mémoire). D'autres succombent, après



avoir contracté une infection toxoplasmique généralisée, ainsi que le prouve l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE II. — *Lapin 635 D.* Inoculation intracutanée. Réaction habituelle. Mort le treizième jour. Frottis de rate : positifs. Passage de cerveau à cerveau au *Lapin 723 D.* Celui-ci succombe à l'encéphalite toxoplasmique le onzième jour.

*Lapin 636 D.* — Même inoculation, même réaction locale. Mort le neuvième jour. Frottis de rate : positifs.

*Lapin 637 D.* — Même inoculation, même réaction locale. Mort le quatorzième jour. Frottis de rate : positifs.

Nous avons étudié les caractères histologiques des nodules provoqués par l'inoculation du virus dans le derme. Des biopsies ont été pratiquées vingt-quatre heures, quarante-huit heures et sept jours après l'opération. Voici, en résumé, nos constatations :

1<sup>o</sup> *Biopsie, vingt-quatre heures après l'inoculation.* — Léger épaissement de l'épiderme. Les papilles dermiques sont infiltrées par des polynucléaires et des monocytes. Début d'organisation avec néoformation vasculaire. Présence de *Toxoplasmes* intracellulaires, inclus dans le cytoplasma des macrophages et des endothéliums vasculaires. Vasodilatation intense.

2<sup>o</sup> *Biopsie, quarante-huit heures après l'inoculation.* — Mêmes altérations, quoique plus accentuées. Le foyer est en voie d'enkystement. *Absence de parasites.*

3<sup>o</sup> *Biopsie, sept jours après l'inoculation.* — Nécrose centrale du nodule. *Absence de Toxoplasmes.*

Ces constatations permettent de conclure que l'inoculation intra-dermique de matériaux riches en *Toxoplasmes* détermine des nodules inflammatoires locaux, lesquels sont parasités tout au début, mais qui finissent par se stériliser du deuxième au septième jour. Le virus quitte le point d'inoculation pour contaminer le reste de l'organisme, y compris le névraxe. La voie qu'il suit n'est pas celle des nerfs correspondant au territoire cutané, siège de l'infection primitive, attendu que ces nerfs ne sont pas altérés, et qu'il en est de même de la moelle dorsale et lombaire (différence avec les ultravirus neurotropes, en particulier le virus herpétique).

### 5<sup>o</sup> VOIE SOUS-CUTANÉE.

L'inoculation sous-cutanée d'émulsions cérébrales riches en *Toxoplasmes* provoque, chez le lapin, des nodules et une infection généralisée, se traduisant par une hypertrophie splénique,

parfois considérable. Toutefois, ces résultats sont inconstants. Chez certains animaux, nous avons constaté la localisation du germe au niveau de l'encéphale. L'examen histologique a révélé, en effet, la présence de petits foyers parasitaires à monocytes, disposés autour des vaisseaux et disséminés dans toute la masse cérébrale. Le centre de ces nodules était nécrosé et parsemé de Toxoplasmes. Les plexus choroïdes étaient atteints

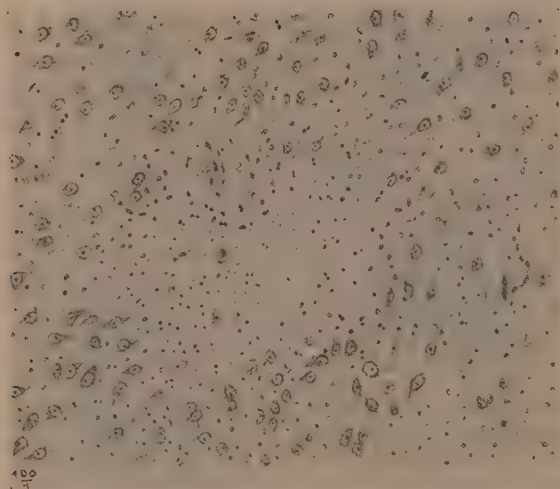


FIG. 30. — *Lapin 691 A*. Encéphale. Nodule toxoplasmique dont le centre est transformé en cavité kystique (voy. fig. 33). Gross. : 100/1.

d'inflammation monocytaire. Nombreux parasites dans la rate.

#### 6° VOIE INTRAVEINEUSE.

Nous avons étudié la réceptivité du lapin à l'égard de l'injection intraveineuse de nos souches toxoplasmiques, en disposant les expériences de la manière suivante : *a*) certains animaux recevaient dans la veine de l'oreille 0 c. c. 5 d'une émulsion cérébrale riche en Toxoplasmes, préalablement clarifiée par centrifugation ; *b*) d'autres animaux, traités de la même manière, recevaient, en outre, une injection de 0 c. c. 5 de bouillon par voie transcranienne. Cette injection devait faire « point d'appel » et agir sur le virus toxoplasmique, comme

elle agit sur le neurovaccin. On sait [Levaditi et Nicolau (1)] que, dans ce dernier cas, l'introduction d'une petite quantité de bouillon ou d'eau salée isotonique dans l'encéphale facilite la localisation névraxique du virus vaccinal, administré par voie veineuse. Les résultats de nos expériences ont été assez variables. Il ne nous a pas semblé que l'inoculation prépara-

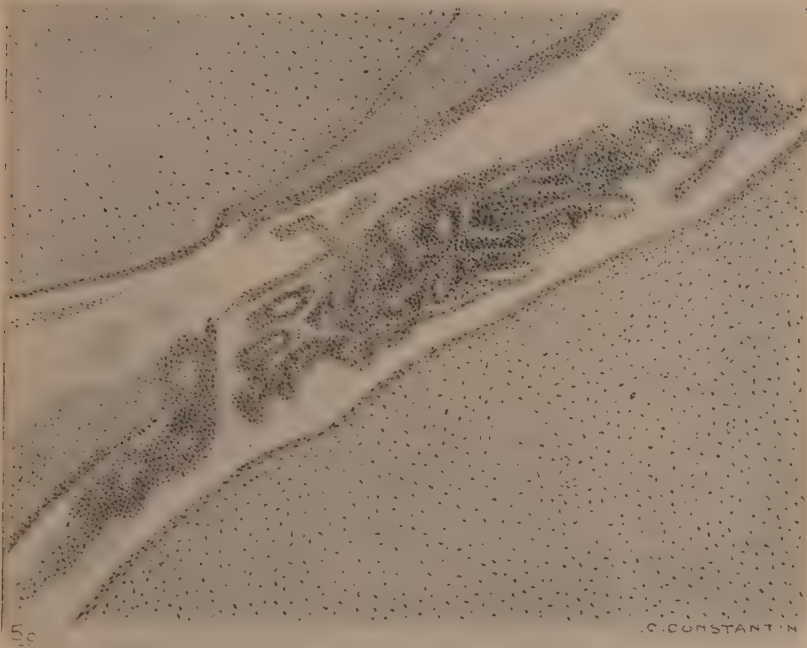


FIG. 31. — *Lapin 691 A*. Encéphale. Lésions chroniques. Dilatation ventriculaire et infiltration monocytaire du plexus choroïde. Gross. : 50/0.

toire attirât tout particulièrement le virus toxoplasmique dans le cerveau. Au demeurant, nous avons enregistré les trois possibilités suivantes : (1) *l'injection intraveineuse crée une toxoplasmose chronique et latente* (expérience 13); (2) *l'injection intraveineuse n'engendre ni infection, ni immunité* (expérience 12); (3) *l'injection intraveineuse réalise l'état*

(1) LEVADITI et NICOLAU. *Ces Annales*, 37, 1923, p. 1.



*réfractaire* (expérience 14). Voici les protocoles de nos essais :

EXPÉRIENCE 12. — *Lapin 693 A* inoculé par voie intraveineuse. Aucun trouble apparent. Réinfecté cinquante et un jours après, il succombe six jours après l'injection intracérébrale, avec des altérations parasitaires typiques aiguës.

EXPÉRIENCE 13. — *Lapin 34 B*. Même inoculation. L'animal meurt le vingt et

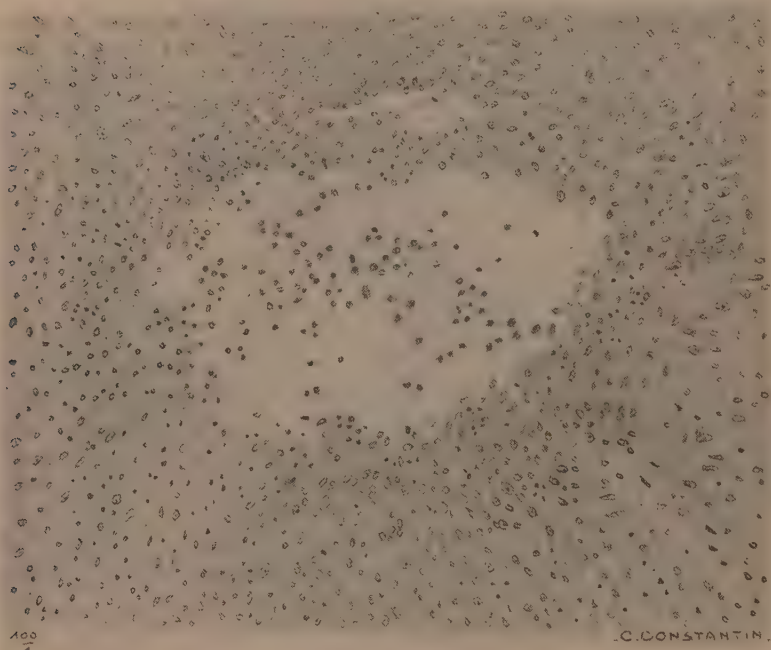


FIG. 32. — *Lapin 691 A*. Encéphale. Lésions chroniques. Formation d'une cavité kystique à l'intérieur de laquelle on constate des cellules granulo-adipeuses libres. Gross. : 400/1.

unième jour. Aucune lésion, sauf la présence de nodules nécrotiques dans le foie. Une émulsion de rate sert à inoculer, par voie intracérébrale, le lapin 213 B. Ce dernier meurt le dix-neuvième jour d'encéphalo-myélite toxoplasmique.

EXPÉRIENCE 14. — *Lapin 692 A*. Inoculé par voie intraveineuse; l'animal reçoit, au même moment, une injection de bouillon dans l'encéphale. Aucun trouble apparent. Eprouvé à deux reprises, les soixante et un et soixante-seize jours après, il se montre solidement réfractaire.

## 7° VOIE INTRATESTICULAIRE.

Le testicule se prête mal à la pénétration et à la pullulation du virus toxoplasmique dans l'organisme. L'inoculation intra-

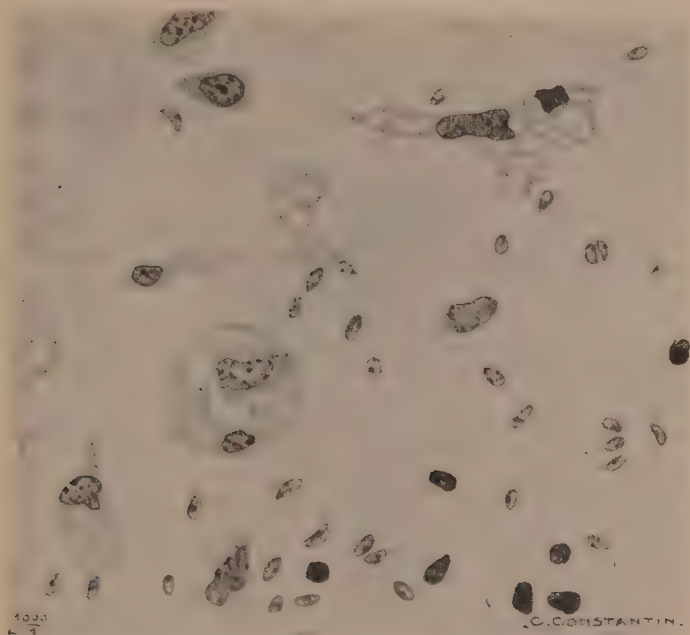


FIG. 33. — *Lapin 691 A*. Encéphale. Corne d'Ammon. Intérieur d'un nodule transformé en cavité kystique. Cellules granulo-adipeuses et Toxoplasmes libres (Tomontes). Gross. : 1000/1.

testiculaire n'est pas suivie d'orchite; d'ailleurs, les Toxoplasmes paraissent disparaître rapidement du parenchyme testiculaire. Tout au plus, constate-t-on, chez certains animaux, la présence de nodules non parasités dans l'encéphale, tout particulièrement au voisinage de la corne d'Ammon.

EXPÉRIENCE 15. — *Lapin 695 A*. Reçoit une injection intratesticulaire d'une émulsion cérébrale riche en parasites. Aucun signe d'orchite. L'animal meurt le trente-cinquième jour. Présence de nodules encéphaliques. Une émulsion de son testicule est inoculée, par voie intracérébrale, au lapin 924 A; résultat négatif.

*Lapin 844 A.* — Même inoculation. L'animal meurt le trente-deuxième jour. Examen négatif sur frottis et sur coupes.

*Lapin 116 B.* — Même inoculation. L'animal est sacrifié le trente-neuvième jour. Examen négatif sur frottis et sur coupes.

EN RÉSUMÉ, *la voie la plus favorable à la pénétration et à la*

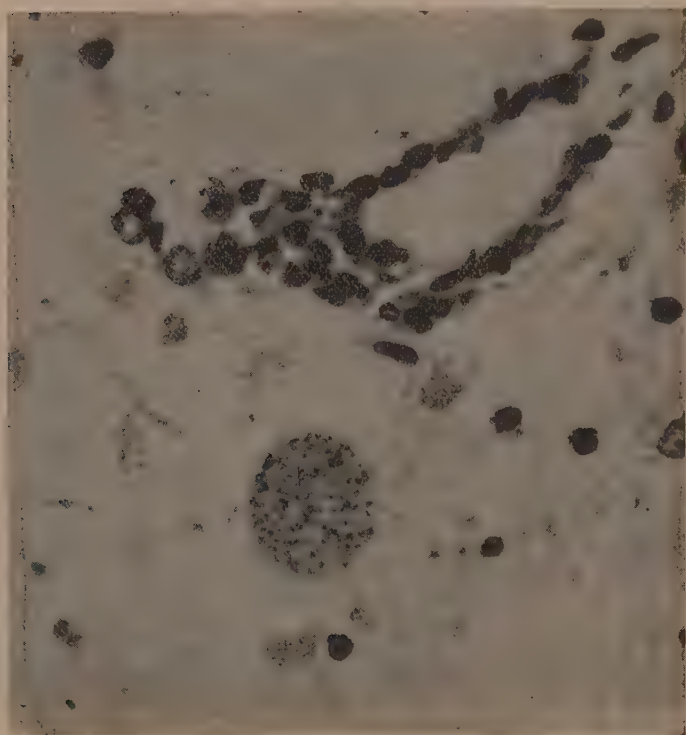


FIG. 34. — Encéphalo-myélite toxoplasmique chronique. Kyste parasitaire au voisinage d'un vaisseau (périvascularite monocyttaire). Faible grossissement. (Photo Jeantet.)

*pullulation du virus toxoplasmique dans l'organisme des animaux réceptifs (lapin, pigeon, jeunes poussins, souris) est celle des centres nerveux. Les nerfs périphériques tolèrent la multiplication locale des Toxoplasmes, mais ne constituent pas une voie d'accès vers la moelle épinière et ses annexes. La « neuroprobasie », si constante dans les infections à virus appartenant au groupe des Ectodermoses neurotropes, est irréalisable dans*



le domaine des *Toxoplasmes*, si l'on envisage les nerfs périphériques. Par contre, elle paraît s'exercer lorsqu'il s'agit des nerfs sensitivo-sensoriels, tels l'optique ou certains nerfs de la base du crâne. Nos expériences d'inoculations dans la chambre postérieure de l'œil, nos constatations concernant les altérations histopathologiques du nerf optique chez le lapin et le

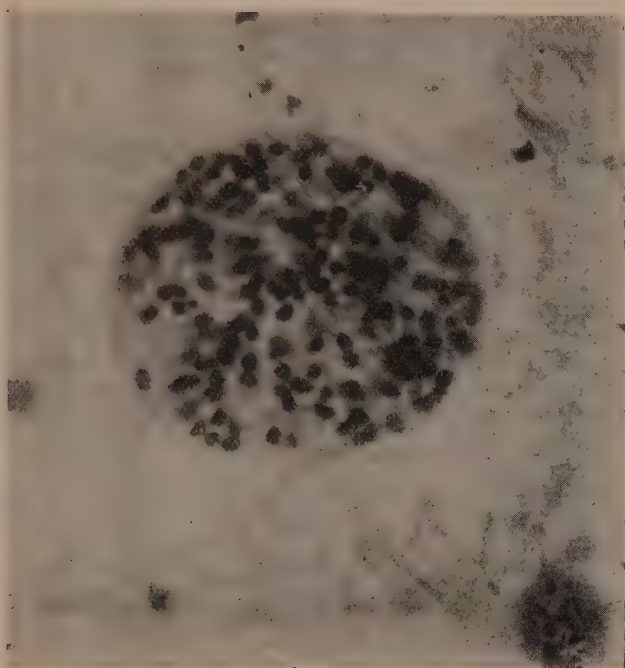


FIG. 35. — Même légende. Fort grossissement. (Photo Jeantet.)

pigeon infectés par voie transcranienne, le prouvent amplement.

L'œil (peu importe s'il s'agit des chambres antérieure ou postérieure) représente un milieu de pullulation éminemment favorable. Les altérations constatées offrent plus d'une analogie avec celles observées par Jankù (1) chez l'enfant hydrocéphalique ayant fait l'objet de ses études. Il en est de même de l'aspect et de la topographie des parasites.

Quant aux autres voies d'accès, elles n'offrent rien de parti-

(1) JANKÙ, *loc. cit.*

culier, sinon que les résultats positifs sont loin d'être aussi constants que ceux enregistrés à la suite des inoculations virulentes intracérébrales. A remarquer surtout la *non-réceptivité du testicule*.

## CHAPITRE V

### Répartition du virus toxoplasmique après injection intracérébrale.

Quelle est la répartition du virus toxoplasmique après inoculation des lapins par voie intracérébrale? L'expérience suivante nous renseigne à ce sujet :

EXPÉRIENCE 16. — Le *Lapin 910 A* est inoculé dans le cerveau avec 0 c.c. 2 d'une émulsion névraïque riche en Toxoplasmes. Le onzième jour, on le trouve couché, dans un état parétique généralisé. Contractures des muscles du râble et de la nuque, nystagmus vertical. On le sacrifie. Le sang, le liquide céphalo-rachidien, ainsi que des émulsions des divers organes, sont inoculés, par voie intracérébrale, à d'autres lapins neufs.

*Liquide céphalo-rachidien.*

*Lapin 977 A* : Mort le vingt-huitième jour. *Résultat négatif.*

*Sang.*

*Lapin 970 A* : Sacrifié le trente-troisième jour. *Résultat négatif.*

*Rein.*

*Lapin 966 A* : Sacrifié le trente-troisième jour. *Résultat négatif.*

*Rate.*

*Lapin 963 A* : Mort le huitième jour. *Résultat positif.*

*Foie.*

*Lapin 964 A* : Mort le sixième jour. *Résultat positif.*

*Poumon.*

*Lapin 968 A* : Mort le seizième jour. *Résultat positif.*

*Cerveau.*

*Lapin 975 A* : Mort le dixième jour. *Résultat positif.*

*Cette expérience montre qu'après une inoculation virulente dans l'encéphale les Toxoplasmes pullulent non seulement dans le névraxe, mais encore dans la rate, le foie et le poumon, alors*

qu'ils paraissent absents du liquide céphalo-rachidien, du sang circulant et du rein. Tout en déterminant une infection généralisée, le virus toxoplasmique, introduit dans le cerveau, semble offrir une affinité pour certains systèmes tissulaires appartenant tantôt au feuillet ectodermique (foie), tantôt au

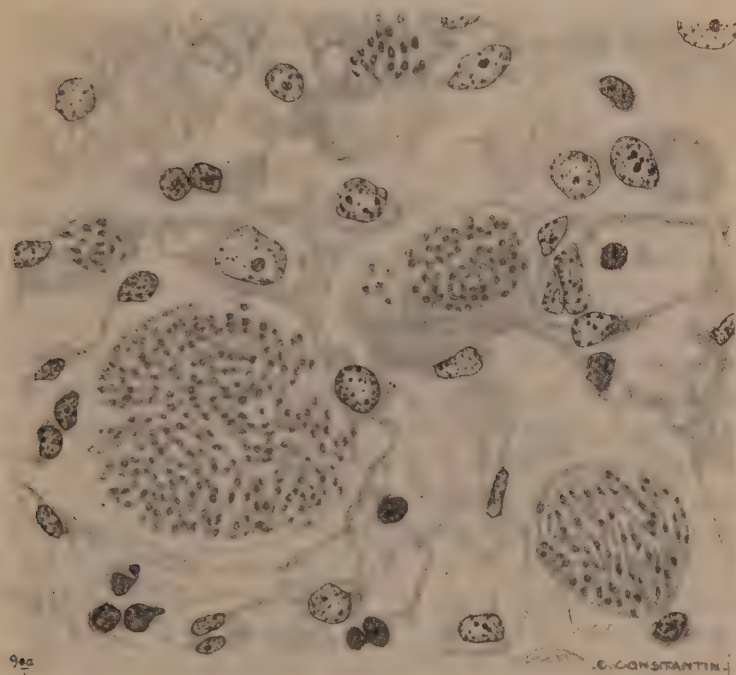


FIG. 36. — *Lapin 691 A*. Encéphale. Altérations chroniques.  
Gros kystes contenant des *Toxoplasmes*. Gross. : 900/1.

feuillet mésodermique (rate). On ne retrouve donc pas ici cette répartition strictement en rapport avec l'origine embryogénétique des tissus, que l'on constate habituellement dans les processus infectieux appartenant au groupe des *Ectodermoses neurotropes*.



## CHARITRE VI

Étude anatomo clinique  
en rapport avec l'évolution  
de l'encéphalo-myélite toxoplasmique  
chez le lapin et la souris (1).

1<sup>o</sup> ÉVOLUTION AIGUE.

Lorsqu'on inocule une de nos souches toxoplasmiques (émulsion d'encéphale riche en toxoplasmes) au lapin, par voie intracérébrale, l'animal succombe généralement de six, huit à douze jours après l'inoculation, après avoir présenté des symptômes nerveux traduisant l'évolution d'une encéphalite compliquée de myélite : nystagmus, battement des paupières, contracture rythmique des masséters et des muscles des membres, opisthotonos, parésies et paralysies du train postérieur, etc. D'autres animaux survivent plus longtemps (vingt-trois jours), la durée de la survie étant en fonction de la quantité et de la virulence du germe inoculé. D'ailleurs, au fur et à mesure des passages, cette virulence s'accroît progressivement.

*La neuro-infection toxoplasmique du lapin est une parasitose intracellulaire, intéressant tout particulièrement la névroglie, la microglie, les épithéliums épendymaires et les cellules adventitielles vasculaires du système nerveux central, des plexus choroïdes et de certains nerfs craniens. A partir du point d'inoculation intra-hémisphérique, on peut suivre pas à pas la progression de l'infection des cellules épendymaires, d'abord au niveau du ventricule latéral correspondant, puis dans l'épendyme qui tapisse l'aqueduc de Sylvius (fig. 20 et 21), le plancher du 4<sup>e</sup> ventricule (fig. 22) et tout le long du canal épendymaire médullaire (fig. 23). Sous l'influence du germe,*

(1) LEVADITI, SANCHIS-BAYARRI et SCHOEN. *C. R. Soc. Biol.*, 97, 1927, p. 1962; 98, p. 292.

les cellules épendymaires s'hypertrophient, deviennent cylindriques, prolifèrent et se disposent en plusieurs assises. Le

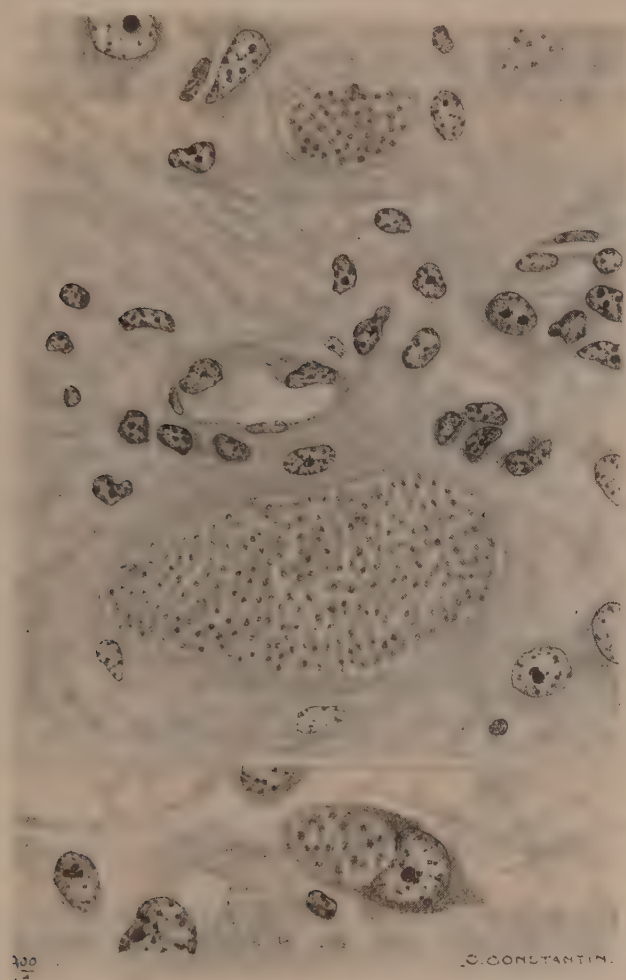


FIG. 37. — *Lapin 694 A. Haut* : Encéphale. Lésions toxoplasmiques chroniques. Nodule avec réaction périvasculaire monocyttaire et deux grands kystes contenant des *Toxoplasmes*. *Bas* : Kyste toxoplasmique dans le cytoplasme d'un neurone. Gross. : 900/V.

cytoplasma de la plupart d'entre elles contient des vacuoles riches en *Toxoplasmes*, parfois à la phase schizogonique du cycle évolutif. De là, le processus se propage aux tissus ner-

veux avoisinants. Il offre l'aspect d'une inflammation nodulaire ou diffuse, riche en plasmacytes et en lymphocytes (fig. 24 et 25); sa propagation paraît suivre les éléments adventitiels des vaisseaux capillaires (fig. 26). A ce niveau, les parasites sont inclus dans le protoplasma des cellules microgliales, à l'intérieur de vacuoles. Ces vacuoles applatissent

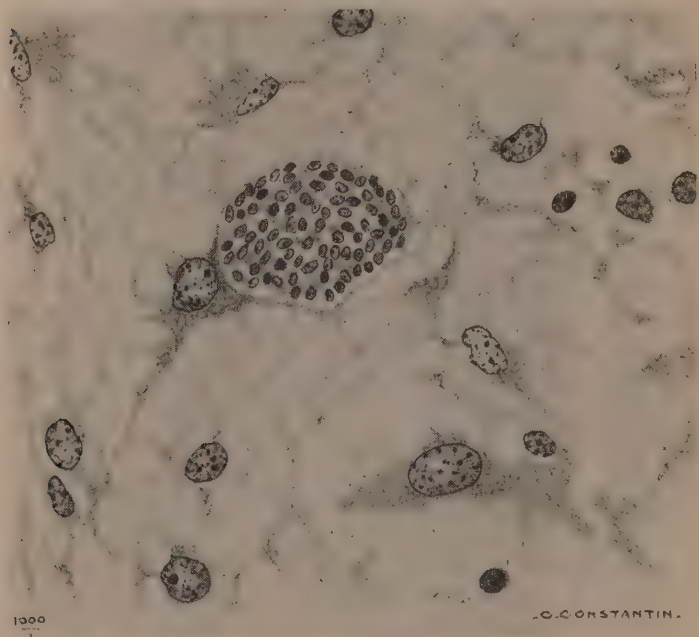


FIG. 38. — *Lapin 691 A. Bulbe.* Toxaplasmes dans le cytoplasma d'une cellule microgliale mobilisée. Gross.: 1000/1.

le noyau et le repoussent vers la périphérie; elles finissent par éclater, libérant ainsi les Toxoplasmes qui s'éparpillent entre les fibrilles nerveuses. *Nous ne les avons constatés que rarement à l'intérieur des neurones.* Ajoutons que la plupart des grands vaisseaux sont entourés de manchons monocytaires, comme il est de règle dans toute encéphalite due à un virus neurotrope ou à un protozoaire (Microsporidies : *Encephalitozoon cuniculi*).

*Les plexus choroïdes sont fortement lésés; les altérations atteignent une intensité que nous n'avons jamais rencontrée au*



*cours de nos études sur les encéphalites expérimentales.* Il s'agit, en l'espèce, d'une inflammation diffuse des plexus, à laquelle participent les monocytes, en particulier des plasmotocytes et des cellules basophiles (fig. 27). Les vaisseaux sont véritablement obstrués; çà et là, on rencontre des foyers de nécrose, riches en polynucléaires caryolisés. L'ensemble des plexus est par-

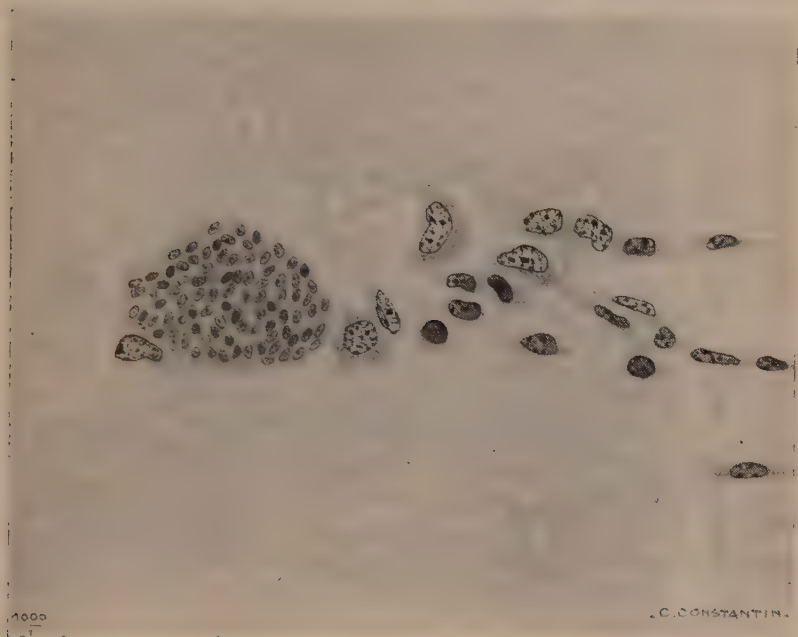


FIG. 39. — *Lapin 691 A.* Moelle épinière. Kyste toxoplasmique dans la corne antérieure (moelle cervicale). Gross. : 1000/1.

semé de Toxoplasmes libres, ou inclus dans le cytoplasme des macrophages. Le processus inflammatoire, oblitérant les vaisseaux et lésant les épithéliums, détermine des troubles de la sécrétion du liquide céphalo-rachidien, d'où une dilatation plus ou moins considérable des ventricules latéraux, indiquant une certaine tendance vers l'*hydrocéphalie*. Mêmes altérations au niveau du bulbe, du cervelet et de la moelle épinière; des foyers de myélite, avec manchons périvasculaires et nodules parasitaires, peuvent être rencontrés aux différents niveaux de la moelle. Ces lésions paraissent plus fréquentes dans les

cornes et les cordons postérieurs. Elles intéressent également les ganglions rachidiens (inflammation monocytaire interstitielle et prolifération des cellules satellites). Mentionnons, enfin, la présence de *Toxoplasmes* dans les cellules adventitielles périvasculaires des nerfs craniens, et leur acheminement vers les organes sensoriels. Les lésions de l'œil ont été décrites ailleurs (voy. p. 700).

Ce qui nous semble particulièrement intéressant, c'est qu'au cours de l'évolution de l'encéphalite toxoplasmique certaines

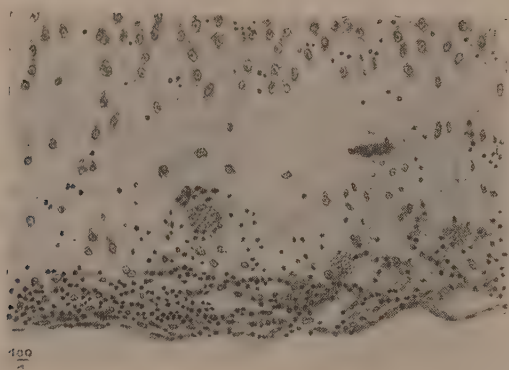


FIG. 40. — *Lapin 815 A*. Encéphale. Lésions toxoplasmiques chroniques. Méningite. Deux kystes toxoplasmiques corticaux. Gross. : 800/1.

cellules nerveuses sont profondément altérées, ce qui n'est pas le cas dans l'encéphalite spontanée provoquée par l'*Encephalitozoon cuniculi*. Ces lésions cellulaires sont prononcées surtout dans le mésocéphale, le bulbe (noyaux d'origine des nerfs craniens) et la moelle épinière; il s'agit de chromatolyse périphérique, de vacuolisation et de modifications nucléaires.

Au cours de nos expériences, il nous a été donné de préciser le moment où, après injection intracérébrale, l'infection toxoplasmique débute dans l'encéphale. Un lapin (n° 290 B) meurt deux jours après l'inoculation transcrânienne d'une émulsion névraxique riche en parasites. L'examen histologique montre que l'épithélium épendymaire est gonflé et en état de prolifération; il constitue plusieurs assises de cellules cylindriques, légèrement vacuolisées. Ça et là, on constate que les plexus

choroïdes sont parsemés de polynucléaires. Dans une cellule épendymaire, on décèle des Toxoplasmes revêtant des formes appartenant au stade de *Tomontes* (Cf. Chatton et Blanc, *loc. cit.*) (fig. 28). Il en résulte qu'à partir du deuxième jour les parasites envahissent les épithéliums épendymaires, s'y multiplient et provoquent leur prolifération caryocinétique. Nous

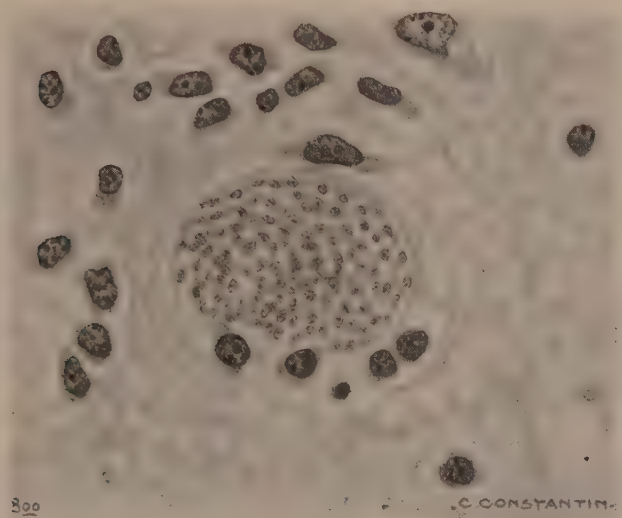


FIG. 41. — *Lapin 815 A*. Encéphale. Lésions toxoplasmiques chroniques. Grand kyste contenant des Toxoplasmes, entouré de lymphocytes. Gross.: 800/1.

étudierons, avec de plus amples détails, les diverses phases de cette évolution de l'infection névraxique, lorsque nous examinerons le problème de l'immunité.

Nous avons également étudié avec une précision suffisante la voie suivie par le germe pour envahir la moelle épinière. L'examen des coupes du système nerveux de plusieurs animaux infectés par inoculation transcranienne nous a montré que le chemin suivi par les Toxoplasmes est double : d'une part, les parasites suivent le canal épendymaire de haut en bas, en traversent les parois (après pullulation intracellulaire) et pénètrent dans le parenchyme médullaire ; d'autre part, ils pullulent dans la pie-mère médullaire, engendrent une méningite à poly-

nucléaires, puis, s'insinuant le long des gaines des racines postérieures, ils s'attaquent d'abord aux cornes postérieures, puis aux cornes antérieures.

\*  
\* \*

Chez la *souris*, l'encéphalo-myélite toxoplasmique à évolution

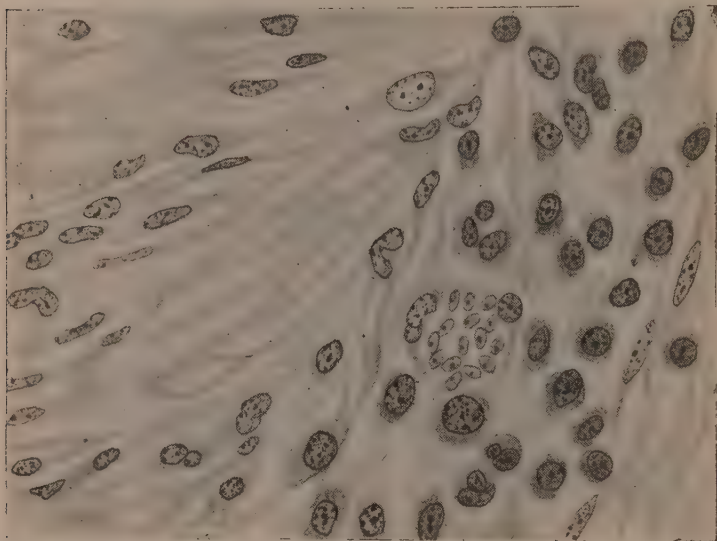


FIG. 42. — *Lapin 815 A*. Moelle épinière. Racine postérieure avec périnévríte et présence de Toxoplasmes dans un gros monocyte kystique. Gross.: 700/1.

aiguë se traduit par des signes cliniques rappelant, dans leur ensemble, ceux signalés chez le lapin. L'état général s'affaiblit progressivement, des paralysies multiples apparaissent, la tête tremble, l'animal se déplace difficilement. Vers la fin de la maladie, la souris est atteinte d'un état paralytique total ; elle succombe dans un délai variable, suivant la réceptivité de l'animal et le degré de virulence de la souche utilisée (Cf., p. 682).

Quant aux altérations histopathologiques de l'encéphale, du bulbe et de la moelle épinière, elles ne diffèrent pas de celles que nous avons décrites chez le lapin. Peut-être y a-t-il lieu de signaler une faible dilatation des ventricules et des lésions moins marquées des plexus choroïdes.



2° PÉNÉTRATION ET PULLULATION DE PROTOZOAIRES  
DANS LA CELLULE NERVEUSE (*Neuroprotozooses*) [1].

Nous avons exposé dans des travaux antérieurs (2) les arguments qui plaident en faveur de la nature microsporidienne du

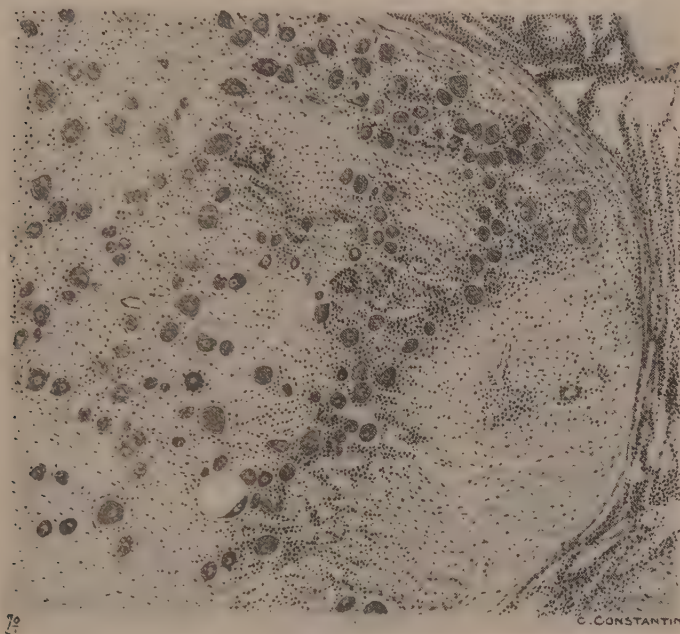


FIG. 43. — *Lapin 8/5 A.* Inoculation intra-cérébrale. Ganglion intervertébral lombaire. Infiltration monocytaire interstitielle et nodules pérircellulaires. Gross.: 70/1.

virus rabique. D'après nous, les corps de Negri représentent la phase pansporoblastique intracellulaire de la microsporidie rabique (*Glugea lyssæ*). L'hypothèse trouve un appui dans les faits résumés ci-dessous, se rapportant à la pénétration et à la pullulation de certains protozoaires, en particulier du *Toxoplasma cuniculi*, dans les cellules nerveuses (*Neuroprotozooses*).

(1) LEVADITI et SCHOEN. *C. R. Acad. Sc.*, **183**, 1928, p. 1584.

(2) LEVADITI, NICOLAU et M<sup>lle</sup> SCHOEN. *Ces Annales*, **40**, 1926, p. 973.

a) *Toxoplasma cuniculi*. — Chez certains lapins et souris inoculés par voie intracérébrale avec ce Toxoplasme, nous avons constaté, au niveau de l'encéphale (corne d'Ammon) et de la moelle (cellules pyramidales des cornes antérieures), la péné-

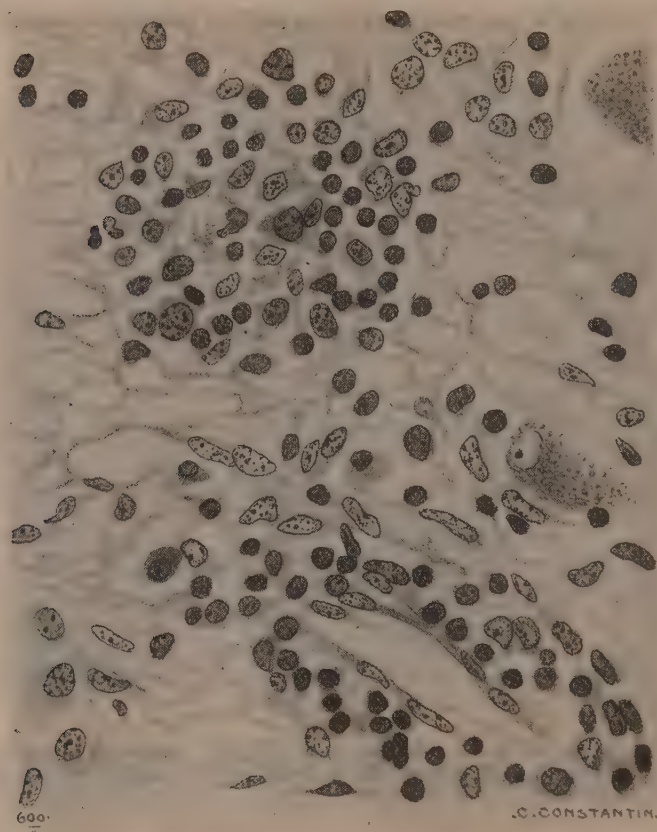


FIG. 44. — *Lapin 815 A*. Ganglion spinal lombaire. Périvascularite et nodule monocyttaire (neuronophagie). Gross. 600/1.

tration des parasites dans les neurones. Les Toxoplasmes (en général falciformes) sont présents soit dans la dendrite (3 de la fig. 29, p. 710), soit dans le cytoplasma (1, 2, 4 et 5 de la fig. 29). Ils sont renfermés dans des cavités kystiques (fig. 37). Les dendrites parasitées montrent des renflements piriformes ; le noyau est souvent rejeté vers la périphérie (Cf. *Planche IX*, fig. 5).

Lorsque l'infection est pratiquée par voie intra-oculaire (chambre postérieure), les toxoplasmes se développent dans les neurones de la rétine. Le *Toxoplasma cuniculi* se comporte donc différemment de l'*Encephalitozoon cuniculi* (1), dont nous n'avons jamais constaté la pénétration dans les neurones.

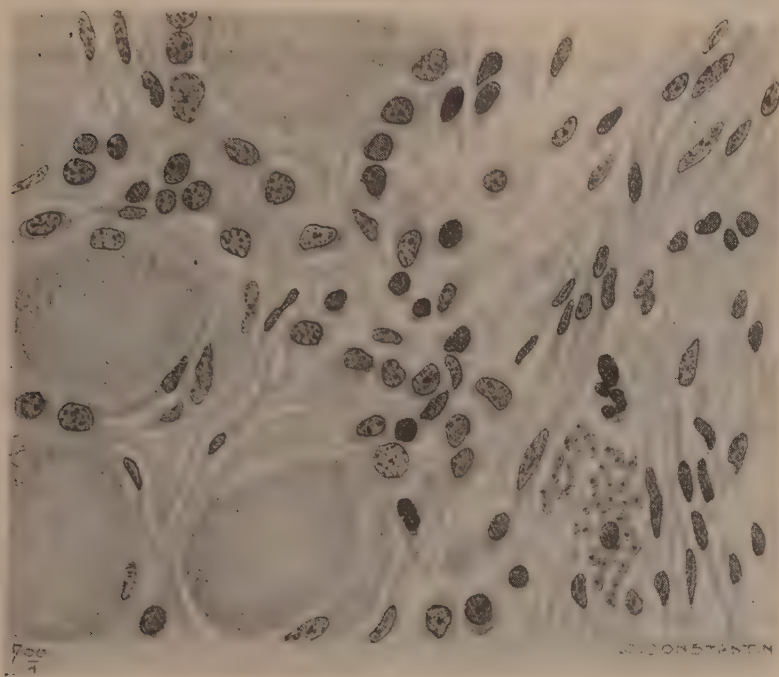


FIG. 45. — *Lapin 845 A*. Ganglion intervertébral lombaire. Présence de Toxoplasmes libres dans la gaine conjonctive du ganglion. Gross.: 700/1.

b) HYDROCÉPHALIE HUMAINE. — Nous avons déjà dit que Jankù (2) a décelé dans la rétine d'un enfant atteint d'hydrocéphalie héréditaire et de colobome de la *macula lutea* des parasites dont la nature protozoaire n'est pas douteuse, et que l'on pourrait rattacher soit aux microsporidies, soit aux Toxoplasmes. Ces parasites forment des kystes inclus dans le cytoplasma des neurones rétiniens (6 de la fig. 29).

(1) LEVADITI, NICOLAU et M<sup>lle</sup> SCHOEN. *Ces Annales*, 38, 1924, p. 651.

(2) JANKÙ. *Casopis lekaruv ceskych*, 62, n° 39-43, 1923, p. 215.

c) NOSEMA (*glugea*) *lophii* (Doflein). — Doflein (1) décrit dans les cellules ganglionnaires du *Lophius piscatorius* des kystes microsporidiens (nerfs cérébro-spinaux et moelle épinière). Les kystes se développent souvent dans des neurones considérablement hypertrophiés et contiennent un nombre incalculable de spores (7 de la fig. 29, d'après Prowazek).

d) IDIOTIE AMAUROTIQUE FAMILIALE. — Spilmeyer (2) constate

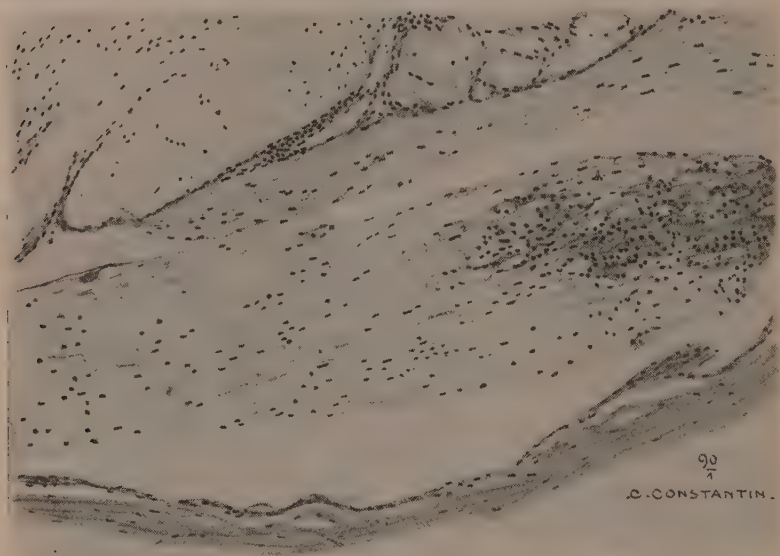


FIG. 46. — *Lapin 815 A*. Inoculation intracérébrale : Racine postérieure.  
Foyer de névrite interstitielle (voy. fig. 47). Gross. : 90/1.

dans les neurones de l'écorce cérébrale (deuxième couche de Broodmann) des altérations qui nous paraissent traduire la présence, dans ces cellules, de parasites encore mal définis. Nous reproduisons la figure 6 d'après Spilmeyer. On y voit une cellule nerveuse pourvue d'une dendrite considérablement hypertrophiée ; cette dendrite contient des formations irrégu-

(1) DOFLEIN. *Lehrb. d. Protozoenkunde*, Fischer, Iéna, 1909, p. 799.

(2) SPILMEYER. *Histopathologie des Nervensystems*, Springer, Berlin, 1922, p. 90.



lières (à comparer avec la figure 3) et est entourée de cellules névrogliques (1).

CONCLUSIONS. — La pénétration et la multiplication de certains protozoaires (*Toxoplasma cuniculi*, *Nosema lophii*, le parasite encore mal défini de l'hydrocéphalie héréditaire humaine) dans

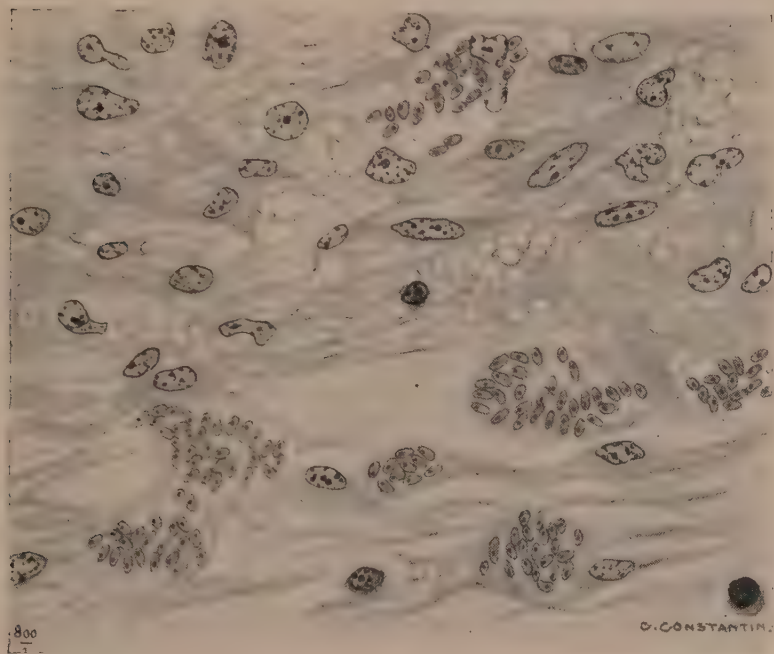


FIG. 47. — *Lapin 815 A*. Inoculation intracérébrale. Moelle épinière, racine postérieure. Cellules granulo-adipeuses ; Toxoplasmes intracellulaires (voy. fig. 46). Gross. : 800/1.

le cytoplasma des neurones encéphaliques, médullaires ou rétiniens, est un fait certain. Des processus pathologiques de l'homme, intéressant le système nerveux, telle l'idiotie amaurotique familiale, seront peut-être rattachés au même groupe des *Neuroprotozooses*. Ces faits rendent de plus en plus plausible l'hypothèse de la nature microsporidienne du virus rabique.

(1) Marinesco, ayant examiné nos préparations d'encéphalite toxoplasmique, a attiré notre attention sur l'idiotie amaurotique.

## 3° ÉVOLUTION CHRONIQUE DE LA TOXOPLASMOSE.

Nous décrirons dans le présent paragraphe les particularités histopathologiques et parasitaires de l'encéphalite toxoplasmique du lapin à *évolution chronique*. Nous y ajouterons les résultats de nos investigations concernant l'infection toxoplasmique du névraxe chez la souris.

1° ENCÉPHALITE TOXOPLASMIQUE CHRONIQUE DU LAPIN. — Nous avons vu que lorsqu'on inocule au lapin des Toxoplasmes par voie transcrânienne les animaux succombent, en général, du sixième au dixième jour. Mais d'autres lapins survivent plus longtemps; nous en avons eu qui ont succombé, ou qui ont été sacrifiés, le seizième, le quarante-deuxième, le quarante-huitième et le cinquante et unième jour. Chez eux, les altérations cérébro-spinales, de même que les caractères et la topographie des toxoplasmes, diffèrent de ceux observés chez les animaux qui meurent par suite d'une attaque aiguë d'encéphalite toxoplasmique. Voici les lésions constatées :

a) *Lapin 691 A.* — Inoculé par voie intracérébrale. Seize jours après, l'animal est maigre; parésie généralisée le trente-septième jour. On le sacrifie le quarante-deuxième jour. *Encéphale* : altérations très intenses du type chronique, analogues à celles que l'on rencontre habituellement chez les lapins ayant survécu à l'encéphalite herpétique, ou ayant succombé par suite d'une de ces « *neuro-infections autostérilisables* » que nous avons décrites récemment (1) (fig. 30). Ces altérations apparaissent surtout au voisinage des ventricules latéraux, dont les parois sont parsemées de cellules granulo-adipeuses, accolées les unes aux autres (fig. 31 et 32). Par ailleurs, on constate des nodules inflammatoires du type monocytaire (éléments épithélioïdes, cellules plasmatiques et bordure lymphocytaire) à disposition périvasculaire. Les vaisseaux sont entourés de manchons analogues à ceux de l'encéphalite léthargique ou herpétique. Les nodules sont plus fréquents au niveau de la corne d'Ammon (fig. 33). Dilatation hydrocéphalique des ventricules. Les Toxoplasmes sont disposés dans des kystes de volume variable et dont quelques-uns prennent des proportions considérables (fig. 34, 35, 36 et 37). Ces kystes contiennent des parasites falciformes, à substance chromatique centrale nettement définie. Considérés d'après leur aspect sur les préparations colorées à l'hémalum-éosine-orange, ces kystes ressemblent d'une manière frappante aux kystes décrits par Jankú (*loc. cit.*) dans l'hydrocéphalie humaine. Absence totale de parasites libres, tels qu'on les observe dans le névraxe des lapins qui succombent à une encéphalite aiguë.

(1) LEVADITI, SANCHIS-RAYARRI et SCHOEN. *C. R. Soc. Biol.*, 98, 1928, p. 941.

**Bulbe :** les altérations, identiques à celles qui viennent d'être décrites, intéressent surtout le plancher du 4<sup>e</sup> ventricule. Les kystes parasitaires sont contenus dans les cellules microgliales (absence de *Toxoplasmes* dans les neurones) (fig. 38).

**Moelle épinière :** lésions inflammatoires et dégénératives des cordons et des racines postérieures. Le canal épendymaire est dilaté et contient des macrophages non parasités. Tout autour de ce canal, prolifération intense des cellules granulo-adipeuses et kystes parasitaires libres ou intracellulaires (fig. 39).

b) *Lapin 845 A.* — Inoculé par voie intracérébrale le 14 décembre 1927. Le 6 janvier, l'animal titube. Du 16 au 25 du même mois, parésie du train postérieur. Le 28 janvier, paralysie totale. Mort le 31 janvier, soit le quarante-huitième jour.

**Cerveau :** les plexus choroïdes sont le siège d'une infiltration monocyttaire (plasmotocytes) intense. Pour le reste, mêmes modifications histologiques et même aspect et topographie des parasites que chez l'animal précédent (il en est de même du mésocéphale et du bulbe) (fig. 40 et 41).

**Moelle épinière :** les altérations médullaires sont particulièrement marquées. En outre des lésions constatées chez le *lapin 691 A.*, nous avons décelé une névrite interstitielle accentuée des racines postérieures (moelle lombaire) (fig. 42, 43) et des modifications ayant pour siège les ganglions rachidiens. Il s'agit de foyers monocytaires à disposition périvasculaire et de manchons lymphocytaires. Les neurones ganglionnaires ne paraissent pas altérés. Les parasites enkystés, abondants dans la moelle, les méninges et les racines, n'ont pas été retrouvés, jusqu'à présent, dans le parenchyme des ganglions rachidiens (fig. 44, 45, 46 et 47). Aucune lésion des nerfs sciatiques. Ajoutons que les passages effectués avec les centres nerveux des animaux atteints d'encéphalite toxoplasmique chronique (au nombre de quatre) ont tous fourni des résultats positifs, ainsi qu'il résulte des protocoles suivants :

EXPÉRIENCE 17. — a) *Lapin 691 A.*, sacrifié le quarante-deuxième jour. Une émulsion de son cerveau est inoculée, par voie transcrânienne, au *lapin 997 A.* Celui-ci meurt le treizième jour d'encéphalite toxoplasmique.

b) *Lapin 845 A.* — Mort le quarante-huitième jour. Une émulsion de son cerveau est inoculée au *lapin 146 B.* Ce dernier succombe à l'encéphalo-myélite toxoplasmique le douzième jour.

c) *Lapin 849 A.* — Mort le dix-septième jour. Passage de cerveau à cerveau au *lapin 913 A.*, qui meurt d'encéphalite toxoplasmique le sixième jour.

d) *Lapin 123 D.* — Mort le dix-huitième jour. Inoculation d'une émulsion de son cerveau au *lapin 261 B.* Encéphalo-myélite toxoplasmique mortelle en douze jours.

2<sup>o</sup> ENCÉPHALO-MYÉLITE TOXOPLASMIQUE CHRONIQUE DE LA SOURIS.  
— Nous avons décrit précédemment (voy. p. 682) l'évolution chronique de l'encéphalo-myélite toxoplasmique chez la souris. Lorsque les animaux survivent, en conservant l'apparence d'une parfaite santé, et qu'on les sacrifie longtemps après l'inoculation, on les trouve atteints d'altérations névraquiques et porteurs de germes. Il en fut ainsi des neuf souris sacrifiées après trente et un, trente-cinq, trente-six, quarante-neuf, soixante et

un, cent et cent soixante-cinq jours. Les modifications histologiques (inflammation chronique des plexus, nodules monocytaires, méningite accompagnée de périvasculature) sont parfois si intenses et si généralisées, que l'on se demande comment de tels animaux ont pu vivre sans montrer des troubles morbides.



FIG. 48. — *Souris 5 série 11. Inoculation intracérébrale. Sacrifiée 100 jours après l'inoculation. Encéphale. Volumineux kyste parasitaire. Gross.: 700/1.*

Et cela d'autant plus que, constamment, on décèle dans leur encéphale des kystes toxoplasmiques volumineux, identiques à ceux décrits chez le lapin. Peut-être ce contraste pourrait-il s'expliquer par l'intégrité de la plupart des neurones encéphalo-médullaires et par le fait que, généralement, les *Toxoplasmes*, hôtes habituels des cellules névrogliales et microgliales, ne s'attaquent pas à ces neurones? Ce qui nous le fait penser, c'est que précisément, chez une de nos souris qui avait présenté des signes nerveux fort accusés (parésies, paralysies partielles, tremblements, déviation de la tête, etc.), nous avons constaté, le trente



et unième jour, des altérations intéressant les cellules nerveuses des cornes antérieures de la moelle, des foyers de myélite aiguë et aussi l'envahissement des neurones par les toxoplasmes (*Neuroprotozoose*) [voy. p. 727]. Ce qui frappe le plus, c'est que toutes nos souris, même celle sacrifiée le cent soixante-cinquième jour, étaient porteuses de germes ; leur névraxe était, en effet, fortement contaminé par des kystes contenant des toxoplasmes virulents pour le lapin (fig. 48) (voy. protocole, p. 682) [1].

**Conclusions.** — 1° *L'encéphalo-myélite toxoplasmique du lapin peut revêtir une allure chronique, auquel cas le névraxe continue à être contaminé par des Toxoplasmes enkystés (Schizontes) ressemblant aux kystes parasitaires décrits dans l'hydrocéphalie humaine (Jankù) ;*

2° *L'encéphalo-myélite toxoplasmique de la souris peut, elle aussi, évoluer d'une manière chronique. Certains animaux vivent jusqu'à cent soixante-cinq jours et ont une apparence normale, malgré les altérations intenses dont leur névraxe est le siège, et quoique porteurs de germes virulents pour le lapin (2).*

(Institut Pasteur et Fondation Matheson  
pour l'étude de l'encéphalite.)

#### LÉGENDE DE LA PLANCHE IX

FIG. 1. — *Lapin 691 A. Inoculation intracérébrale. Mort le quarante-deuxième jour. Kyste toxoplasmique au milieu d'un nodule constitué par des monocytes et des cellules microgliales mobilisées. Hémalum-éosine-orange. Gross. : 1000/1.*

FIG. 2. — *Lapin 910 A. Inoculation intracérébrale. Mort le onzième jour. Frottis de cerveau coloré au Giemsa. Hématies et Toxoplasmes (Tomontes). Gross. : 1000/1.*

FIG. 3. — *Lapin 355 B. Inoculation intracérébrale. Mort le sixième jour. Coupe de cerveau. Vaisseau contenant des hématies et des leucocytes, et dont les endothéliums renferment de nombreux Toxoplasmes. Bleu polychrome de Unna-éosine-orange. Gross. : 700/1.*

(1) Cf. à ce sujet le travail récent de P. LÉPINE. *C. R. de la Soc. de biol.*, 100, 1929, p. 262.

(2) Voir la suite dans notre *Second mémoire*, à paraître prochainement.

- FIG. 4. — *Embryon de poulet inoculé dans l'œuf*. Frottis de sang. Un groupe de 4 Toxoplasmes et des hématies. Giemsa. Gross. : 1000/1.
- FIG. 5. — *Souris inoculée par voie intracérébrale*. Sacrifiée le trente et unième jour. Moelle épinière (corne antérieure). Présence d'un kyste toxoplasmique dans le cytoplasma d'une cellule pyramidale (*Neuroprotozoose*). Giemsa. Gross. : 1000/1.
- FIG. 6. — *Lapin 819 A. Inoculation intracérébrale*. Mort le dix-septième jour. Encéphale. Imprégnation à l'argent [méthode de Levaditi (ancienne)]. Kystes toxoplasmiques dans les cellules neurogliales et microgliales. Gross. : 1000/1.
- FIG. 7. — *Lapin 185 B. Inoculation intracérébrale* (passage pigeon). Mort le sixième jour. Toxoplasmes dans les neurones, au voisinage d'un foyer parasitaire. Bleu de polychrome de Unna-éosine-orange. Gross. : 1000/1.

## LA FIÈVRE JAUNE ET LA SENSIBILITÉ DU *MACACUS RHESUS*

par E. MARCHOUX.

La prophylaxie n'a pas eu raison de la fièvre jaune. — Le rôle du *Stegomyia fasciata* alias *Aedes egyptus* comme unique agent du virus de fièvre jaune a été magnifiquement établi en 1901 par les membres de la Commission américaine de Cuba, Walter Reed, Carroll, Agramonte et Lazear (1). Cette mémorable découverte a été rapidement confirmée d'abord à La Havane même par Guiteras (2), à la Vera Cruz par Rosenau, Parker, Beyer et Pothier (3), à São Paulo par L. P. Barreto, A. de Barros et Rodriguez (4), et à Rio de Janeiro par la Commission française composée de MM. Marchoux, Salimbeni et Simond (5).

Gorgas, à La Havane d'abord, à Panama ensuite, mettant à profit la connaissance de l'agent vecteur du fléau, établit la règle d'une prophylaxie efficace basée sur la recherche et la destruction des *Stegomyia* contaminés et des gîtes à larves. En quelques mois, il est parvenu à débarrasser du fléau l'île de Cuba, puis cette zone du Canal de Panama où, en dépit de ce terrifiant obstacle pathologique, la Compagnie fondée par Ferdinand de Lesseps a fait un si magnifique travail.

Oswaldo Cruz, par son énergie, sa méthode impeccable et son esprit d'organisation, a débarrassé le Brésil du fléau qui en fermait les portes. Aussi est-ce avec raison qu'on lui attribue ainsi qu'au grand Président de la République, Rodrigues Alves

(1) W. REED, I. CARROLL, A. AGRAMONTE et LAZEAR, The etiology of the yellow fever, 1901. Columbus (Ohio).

(2) J. GUITERAS, Experimental yellow fever. *Am. med.*, II, 1901, p. 109.

(3) ROSENAU, PARKER, BEYER et POTHIER, A study of the yellow fever. *Yell. fev. inst.*, mars 1903, mai 1903.

(4) L. P. BARRETO, A. DE BARROS et A. G. S. RODRIGUEZ. *Rev. med. de São Paulo*, 6, 28 février 1903.

(5) MARCHOUX, SALIMBENI, SIMOND, Rapport sur la fièvre jaune. *Ces Anna'es*, novembre 1903.

qui l'avait choisi pour cette tâche, le si beau développement que l'assainissement a permis dorénavant dans ce riche et luxuriant pays.

L'application de mesures identiques a successivement libéré tous les pays d'Amérique de la fièvre jaune ou à peu près, car il en a persisté quelques cas à Bahia jusqu'en 1926.

Au moment où nous pouvions croire au triomphe de la prophylaxie et où nous pensions à une disparition définitive de cette maladie, elle a subitement pris un nouvel essor et, par de meurtrières incursions, a réveillé l'attention du monde qui était en sommeil. Partie en 1926 de la Nigeria, elle a gagné la Gold Coast et les Colonies françaises du Dahomey, de la Haute Volta, de la Côte d'Ivoire et du Sénégal. Après avoir parcouru les villages de l'intérieur et avoir sévèrement frappé la ville de Rufisque, elle paraissait dominée quand elle fit son apparition en 1927 à Dakar, Thiès et les stations du chemin de fer de Dakar à Saint-Louis. La mortalité fut grande, sans doute, aussi bien dans la population indigène, qui, malheureusement, s'écarte du médecin, que dans la population blanche où le sceau de la maladie s'imprime plus manifestement. Elle a fauché aussi parmi les savants appliqués à l'étudier. Ce fut d'abord un Pastorien, le D<sup>r</sup> Guillet, mort à Thiès; puis Ad. Stokes à Lagos (Nigeria) dont le décès a été suivi à Accra (Côte d'Or) de ceux du grand savant japonais Noguchi et du chef du Laboratoire, le D<sup>r</sup> Young.

Au mois de juin dernier, elle a reparu à Rio de Janeiro où, depuis vingt ans, on n'en avait pas vu un seul cas autochtone.

**Introduction du *M. rhesus* comme animal d'expérience.** — Ce retour offensif d'une affection qu'on s'était habitué à regarder comme presque éteinte a été plus sévère qu'il n'eût dû l'être. Il a permis cependant un certain nombre d'expériences intéressantes.

Tout d'abord le *Leptospira* de Noguchi n'a pu être retrouvé, même par Noguchi lui-même. Il fallait donc abandonner cette étiologie que l'insuccès des sérums et vaccins employés ne semblait pas d'ailleurs confirmer. Cependant, la riche dotation de la Mission Rockefeller a permis la recherche parmi beaucoup d'autres d'un animal d'expérience sensible. C'est à



Stokes (1) que revient pour la plus grande part le mérite de l'avoir découvert. Les singes d'Asie peuvent être inoculés avec succès et en particulier les macaques. Le *Macacus rhesus* est même si sensible que presque tous les animaux de cette espèce meurent quand ils sont inoculés.

Cette observation a été confirmée d'abord par Mathis et Sellards (2) à Dakar, puis par un certain nombre d'auteurs, en particulier, d'une part, par Beeuwkes (3) et la Mission de la Nigeria, d'autre part par Noguchi à Accra où ce savant est mort des suites de la fièvre jaune après avoir vérifié que le *Lep-tospira icteroïdes* ne devait plus être considéré comme l'agent étiologique de la maladie. Il avait réuni là un matériel de travail des plus importants. Mais comme le directeur du laboratoire de la Colonie, le Dr Young, fut frappé peu après et succomba, le Gouverneur de la Côte d'Or a interdit toute expérience dans la Colonie qu'il dirige et il a fait tuer les quelques 500 rhesus réunis pour les expériences.

**Vaccins et sérums.** — Le virus de la fièvre jaune recueilli à Dakar a été rapporté par Sellards (4) en Europe. Ce savant a pu le convoier en Angleterre et jusqu'en Amérique en le maintenant à très basse température. Hindle (5), au laboratoire de recherches du Burroughs et Wellcome bureau, garde ce virus congelé. Il a pu, par ce moyen, procéder à des essais de vaccination et il est arrivé en maintenant le virus en présence de formaldéhyde, d'après le procédé imaginé par Ramon pour transformer la toxine diphtérique en vaccin et employé aussi dans le même but par Staub pour la peste aviaire, à obtenir un certain degré d'atténuation grâce auquel il a réussi à protéger le singe contre une inoculation virulente. Il a obtenu de meilleurs résultats encore en faisant agir pendant une semaine, sur du foie virulent, un mélange de glycérine phéniquée et d'eau distillée.

Par les soins de Hindle et l'aimable intermédiaire de S. P.

(1) A. STOKES. *Brit. med. Journ.*, 1<sup>er</sup> octobre 1927. — AD. STOKES, J. H. BAUER et N. P. HUDSON. *Journ. amer. med. Ass.*, 90, n° 4, 28 janvier 1928, p. 253.

(2) C. MATHIS, A. W. SELLARDS et J. LAIGRET. *C. R. Ac. Sc.*, 186, février 1928, p. 604.

(3) H. BEEUWKES. Conférence inter-coloniale, Dakar, 23 avril-1<sup>er</sup> mai 1928.

(4) A. W. SELLARDS et E. HINDLE. *Brit. med. Journ.*, 23 avril 1918, p. 713.

(5) E. HINDLE. *Brit. med. Journ.*, 9 juin 1928, p. 976.

James, le virus de Mathis et Sellards est arrivé à l'Institut Pasteur de Paris.

Pettit et Stephanopoulo (1) ont pu, par ce moyen, poursuivre des expériences de vaccination et de production de sérum. Presque en même temps que Hindle, ils ont préparé un vaccin au formol qui leur a permis de protéger le singe. En inoculant au cheval du liquide de broyage de foie de singes morts de fièvre jaune, ils ont même obtenu un sérum préventif et curatif.

**Identité de la fièvre jaune d'Afrique et d'Amérique.** — Oscar Klotz (2), de ses examens anatomo-pathologiques faits sur des pièces venant d'Afrique et d'Amérique, conclut à l'identité de la fièvre jaune observée sur les deux continents. Cette opinion partagée par Hudson (3), anatomo-pathologiste de la mission Rockefeller à Lagos, n'apportait cependant pas une démonstration formelle. Celle-ci est due au professeur de Beaurepaire Aragão (4) de l'Institut Oswaldo Cruz, de Rio de Janeiro. Le savant brésilien a pu établir que le *Macacus rhesus* et même le *M. cynomolgus* sont sensibles au virus jauneux américain, alors que le *Leptospira* isolé à Bahia reste inoffensif. C'est la démonstration qu'on attendait de l'identité de la fièvre jaune d'Afrique avec celle de l'Amérique et par conséquent la démonstration connexe que le *Leptospira icteroïdes* est un accident de laboratoire et non pas le germe de la fièvre amarile. Depuis, A. W. Sellards a pu protéger des *M. rhesus* contre le virus Africain, par du sérum de convalescents américains.

**Les apparentes contaminations de laboratoire.** — Nous-même avons pu, à l'aide du virus de Mathis et Sellards, procéder à la vérification d'un certain nombre des expériences de contamination faites par Beeuwkes et qui ne semblaient pas cadrer avec nos observations de Rio de Janeiro.

Le savant américain les exprime en français dans les termes suivants : « Quelques gouttes de sang virulent ont été appli-

(1) A. PETTIT et G. STEPHANOPOULO. *C. R. Soc. Biol.*, 29 juin 1928, p. 256-258-260.

(2) O. KLOTZ. *Amer. Journ. Trop. Med.*, 7, fasc. 5, septembre 1927, p. 27.

(3) P. HUDSON. *Conf. afr. de la fièvre jaune*, Paris, Fournier, 1928.

(4) H. DE BEAUREPAIRE ARAGAO. *Soc. med. e cir. do Rio de Janeiro*, 49 juin 1928 in *a folha medica*, 25 juin 1928, p. 218.

quées sur une partie de la peau de l'abdomen de trois singes (*M. rhesus*) dont celle du premier a été scarifiée, celle du second rasée, et celle du troisième singe laissée intacte. Ces trois animaux moururent avec une autopsie typique, démontrant que le virus peut passer même à travers la peau intacte. Ces expériences furent répétées et les résultats obtenus antérieurement furent confirmés. Dans une expérience, des tentatives ont été faites pour produire l'infection chez un singe en plaçant une goutte de sang virulent dans le sac de la conjonctive et chez un autre animal en lui donnant 0 c. c. 5 du même sang par la bouche, suivie d'une petite quantité de solution de sel. Ces deux animaux se sont montrés réfractaires, mais plus tard se montrèrent être susceptibles quand ils furent inoculés avec du sang virulent ».

De ces expériences Beeuwkes conclut à l'hypothèse d'une contamination de laboratoire pour expliquer la mort de Stokes qui, dit-il, n'a pu être piqué par un moustique infecté.

Il pourrait ne s'agir que d'apparences. — Cette hypothèse nous a beaucoup surpris parce que, au moment où la mission française a fait ses expériences à Rio de Janeiro, nous étions loin de supposer qu'un virus fût susceptible de traverser la peau. Aussi avons-nous pratiqué toutes les autopsies, au nombre d'une centaine, les mains nues et sans même la précaution de vérifier si nous ne portions pas quelques érosions de l'épiderme. A plusieurs reprises, malgré l'attention que nous portions à éviter tout accident, il nous est arrivé de nous blesser sur l'extrémité d'une côte sectionnée. Ces autopsies étaient faites dès l'arrivée du corps à la salle des morts, c'est-à-dire parfois quelques instants après que le malade avait rendu le dernier soupir, car, en raison du climat, l'inhumation se fait, à Rio de Janeiro, quelques heures après le décès. Nous n'avons jamais éprouvé le moindre malaise.

C'est aussi sans le moindre accident de contamination que nous avons manié le sang virulent. Tous les malades qui arrivaient à l'hôpital avant le troisième jour étaient saignés non seulement pour recueillir du matériel, mais aussi pour atténuer les douleurs provoquées par la forte tension artérielle du début et la congestion active qui en résultait. En général, les malades

retiraient un grand soulagement de ces saignées qui variaient de 60 à 300 cent. cubes. Elles étaient faites à une veine du pli du coude à l'aide d'une seringue de Roux de 20 cent. cubes munie d'un raccord de caoutchouc. Chaque saignée était suivie d'un ensemencement fait en bouillon avec un peu de sang recueilli pour en vérifier la stérilité. C'est à titre tout à fait exceptionnel que s'est parfois décelée une contamination. Cependant, en dépit des précautions prises, il arrivait fréquemment que quelques gouttes de sang s'échappaient entre deux adaptations de la seringue sur l'embout et nous souillaient les mains. Un tel accident n'était pas rare à la fin de la prise, au moment du retrait de l'aiguille montée sur le raccord encore plein de sang. De même en projetant le sang qui remplissait le corps de pompe, dans le flacon où il était réuni, il est arrivé qu'un piston défailant laissât échapper un jet en arrière. Plusieurs fois, par altération de matériel, ou indocilité du malade, du sang nous a été projeté au visage, dans les yeux et la bouche. Les seringues étaient nettoyées à la main sous un mince filet d'eau fraîche, dès l'arrivée au laboratoire. Aucune de ces souillures n'a été nocive. Nous étions donc autorisé à conclure à l'innocuité du virus venant ainsi en contact du revêtement cutané de l'homme.

Aussi avons-nous décidé de répéter les expériences de Beuwkes.

PREMIÈRE EXPÉRIENCE. — Le 1<sup>er</sup> juin 1928, un *M. rhesus* inoculé depuis deux jours, température 38°, est saigné à la fémorale. Le sang défibriné est recueilli dans un tube. Les perles qui ont servi à l'extraction de la fibrine sont lavées dans une très petite quantité d'eau qui est ensuite soutirée.

On inocule 1° avec le liquide du lavage des perles, 2 rats qui reçoivent chacun 2 cent. cubes dans le péritoine.

2° avec le sang, 4 singes *M. rhesus* de la façon suivante :

Le singe 1 reçoit 3 cent. cubes sous la peau de l'abdomen.

Le singe 2 est scarifié à la peau de l'aîne droite sur laquelle est déposé *loco* un lac de sang qu'on y laisse sécher.

Le singe 3 est soumis à l'action infectante d'une égale quantité du même sang déposée sur la peau normale de l'aîne droite; *on a veillé à ce qu'aucun poil ne soit arraché.*

Le singe 4 reçoit une goutte de sang dans le sac conjonctival de l'œil droit.

3° On ensemence un tube de bouillon.

4° Le reste du sang est gardé à la température du laboratoire sous une couche d'huile de vaseline.

Les rats et les singes sont restés bien portants, le bouillon ensemencé n'a donné lieu à aucune culture.



DEUXIÈME EXPÉRIENCE. — Le 6 juillet l'expérience est reprise. On se sert cette fois d'un liquide septique obtenu par broyage dans l'eau physiologique d'un fragment de foie provenant d'un singe sacrifié agonisant.

Les 4 singes restés indemnes après la première expérience sont utilisés pour cette expérience en même temps qu'un singe neuf témoin.

Au singe 1 on inocule par voie intrapéritonéale 5 cent. cubes du liquide recueilli.

Au singe 2, scarifié dans l'aîne droite, on étale sur les scarifications un lac de liquide qu'on laisse en place jusqu'à dessiccation.

Au singe 3 on applique la même quantité de liquide et de la même façon sur la peau de l'aîne droite, intacte.

Au singe 4 on donne une goutte sur la conjonctive de l'œil droit.

Au singe neuf 5 on inocule 1 cent. cube de liquide septique dans le péritoine.

Le 8 juillet la température des singes disposés chacun dans une cage est pour :

8 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	37,5
Singe 2. . . . .	37,7
Singe 3. . . . .	38
Singe 4. . . . .	38,3
Singe 5. . . . .	38,3

9 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38,5
Singe 2. . . . .	37,2
Singe 3. . . . .	38,4
Singe 4. . . . .	38,3
Singe 5. . . . .	39

10 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38
Singe 2. . . . .	39,3
Singe 3. . . . .	38,3
Singe 4. . . . .	38,2
Singe 5. . . . .	37

11 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38,5
Singe 2. . . . .	37
Singe 3. . . . .	38,1
Singe 4. . . . .	38,6
Singe 5. . . . .	mort.

A l'autopsie on trouve un foie jaune clair, un abondant liquide péritonéal et péricardique; de la pulpe de foie, du liquide du péritoine et du péricarde sont ensemençés en bouillon ainsi que le sang du cœur. Ces ensemençements ont donné une culture. Il a poussé un gros coccobacille qui, dans le foie, était accompagné d'un diptérocoque. Un fragment de foie est congelé à la glacière.

12 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38,4
Singe 2. . . . .	mort.
Singe 3. . . . .	38,3
Singe 4. . . . .	39,3

A l'autopsie, pas d'ictère, foie jaune-rouge. On ensemece du sang du cœur, de la pulpe de rate et le liquide qu'on trouve en très faible proportion dans le péritoine. Ces ensemençements restent stériles; de la pulpe de foie a donné en bouillon une culture d'un gros staphylocoque. Un fragment de foie est congelé à la glacière.

13 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38
Singe 3. . . . .	38,5
Singe 4. . . . .	35,6

Le singe 4 est très abattu, il ne réagit presque plus quand on le touche; une bouffée de chloroforme suffit à le tuer.

A l'autopsie, on ne trouve point de liquide ni dans le péritoine, ni dans le péricarde.

La peau est pâle, le tissu conjonctif est fortement ictérique. Le foie est jaune très clair, franchement gras; pas de lésion de l'estomac. Un fragment de foie est conservé congelé à la glacière.

On prélève du sang du cœur 10 cent. cubes environ qui est défibriné. La moitié est gardée en ampoule scellée au laboratoire, l'autre moitié en ampoule scellée à la glacière. Au préalable, on en ensemece une portion dans du bouillon qui reste stérile.

14 juillet :

DEGRÉS CENT.

Singe 1. . . . .	38,7
Singe 3. . . . .	38,3

15 juillet :

DEGRÉS

Singe 1. . . . .	38,5
Singe 3. . . . .	38,2

A partir de ce jour les deux singes restant vivants, continuent à se bien porter et conservent une température variant entre 38° et 38°7. Malheureusement ils sont morts cachectiques les 16 et 31 octobre avant qu'on ait pu les réinoculer.

**Conservation du virus.** — Des fragments de foie du singe 4 congelés à la glacière le 13 juillet, il n'a pu, faute d'animal d'expérience, être fait usage que le 12 décembre.

A cette date, deux gros fragments représentant environ 5 grammes sont broyés dans 5 cent. cubes d'eau physiologique dont 2 cent. cubes sont inoculés à un *M. rhesus* n° 6.

L'animal reste indemne.

Le 12 janvier, le même animal reçoit 2 c. c. 5 d'un broyage de foie frais, en même temps qu'un *M. cynomolgus*.

Le *M. rhesus* meurt le 27 janvier.

A l'autopsie, on constate la présence pour la première fois de taches livides sur la face, le cou et les extrémités. Teinte légèrement ictérique de la peau, des oreilles et de l'abdomen. Foie jaune-clair. Reins pâles. L'ensemencement de sang du cœur en bouillon est resté stérile.

Le *cynomolgus* résiste sans présenter aucun malaise apparent.

**Conclusions.** — De ces expériences il découle :

1° Que le virus utilisé la première fois renfermait assez de virus pour permettre d'immuniser le singe 1, mais trop peu pour que les autres singes aient pu être contaminés, ou immunisés ;

2° Que la contamination du singe se fait par la peau scarifiée assez profondément pour que l'inoculation équivaille à une inoculation sous-cutanée.

3° Que le virus n'a pas traversé la peau intacte. Il convient pour cela de veiller à ne pas arracher de poils à l'endroit où est déposé le virus qui pénétrerait sans doute par la petite porte d'entrée ainsi ouverte. Nos expériences antérieures nous ont montré que la blessure d'un bulbe pileux est une porte d'entrée très favorable même pour des virus moins subtils que le virus de la fièvre jaune ;

4° Que le virus a pu passer par la conjonctive et donner lieu à une fièvre jaune typique.

Cette expérience est-elle en contradiction avec celle de Beeuwkes qui n'a pu contaminer le singe, ni par la conjonctive, ni par la muqueuse du tube digestif ? Nous ne le pensons pas, bien que les muqueuses se montrent toujours plus perméables que la

peau. Une expérience unique ne suffit pas à trancher la question.

Si nous nous reportons aux essais de contamination à l'aide du trypanosome faites par Ivanov et Mesnil (1), nous pouvons avoir quelque doute sur la réalité du passage. Ces deux savants n'ont obtenu de contamination que lorsque la conjonctive était lésée. Pour éviter aux souris d'expériences toute érosion accidentelle et leur permettre de guérir de celles qu'elles peuvent porter, ils les conservent pendant quinze jours dans des récipients où il n'y a que des grains de sarrasin à l'exclusion des grains d'orge ou d'avoine à arêtes piquantes. Dans ces conditions, les souris supportent sans en souffrir la présence de trypanosomes sur la conjonctive.

En revanche, Gwelessiany (2), en se servant, sur des souris ainsi préparées, d'un mélange de trypanosomes et de spirochètes, a vu que, si les trypanosomes étaient arrêtés, les spirochètes passaient.

Le germe si subtil de la fièvre jaune se comporte-t-il comme les trypanosomes ou comme les spirochètes? C'est ce qui reste à établir. Nous serions porté à croire qu'il est capable de traverser la paroi épithéliale sans que celle-ci soit lésée;

5° Que le *Macacus rhesus* est plus sensible que l'homme au virus de la fièvre jaune, ainsi que l'indique l'innocuité si souvent constatée par nous et par tant d'autres de produits septiques venant au contact de la peau ou des muqueuses. Celui qui a passé par le singe n'est pas plus dangereux puisqu'un de nos collègues a reçu accidentellement sur le visage, dans les yeux et la bouche, le contenu d'une seringue renfermant de la pulpe de foie de singe ayant succombé à la fièvre jaune (3);

6° Que même congelé, le virus ne se conserve pas pendant cinq mois;

7° Que les règles de la prophylaxie ne paraissent pas devoir subir de modifications.

L'extinction du foyer africain est illusoire pour longtemps. — A cet égard, il convient de faire remarquer que les méthodes

(1) E. IVANOV et F. MESNIL. *Ann. Inst. Path.*, 44, mai 1927, p. 507-512.

(2) J. GWELESSIANY. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 20, juillet 1927, p. 663-664.

(3) A. PETTIT, G. STEPHANOPOULO et V. FRASEY. *C. R. Soc. Biol.*, 21 juillet 1928, p. 541.



de prophylaxie par destruction des *Stegomyia*, qui donnent de si bons résultats partout où elles sont régulièrement appliquées, laissent peu d'espoir de libérer de la fièvre jaune le continent noir, tant qu'on n'aura pas fait disparaître celle-ci de la Nigeria. C'est là seulement qu'il existe des centres populeux dans lesquels la maladie peut se conserver à l'état endémique. C'est de là que sort périodiquement la fièvre jaune pour se répandre dans les diverses colonies africaines.

Nous savons en effet que dans les petites agglomérations elle ne fait que passer, parce qu'elle évolue très vite, frappe tous ceux qui présentent un degré de sensibilité suffisant et s'éteint ensuite par disparition de tout aliment susceptible d'entretenir le virus. Au contraire, dans les grandes villes, la maladie peut se maintenir parce que celles-ci représentent un centre d'attraction pour les étrangers et qu'il s'y produit en tout cas assez de naissances pour fournir des aliments continus au foyer.

Cette notion de géographie médicale ne doit plus rencontrer de contradiction puisque les savants américains ont vu, comme nous autrefois, qu'il n'existe pas d'immunité de race (1) et qu'ils ont pu contaminer des singes avec du sang prélevé sur des indigènes légèrement atteints.

Périodiquement, la fièvre jaune sort de ces foyers et, au hasard du voyage des porteurs de germes, se distribue dans les villages noirs où elle passe inaperçue tant qu'un Européen n'est pas frappé.

**La discontinuité des mesures est habituelle.** — Il est remarquable de constater que les grandes épidémies ne se déclarent guère que tous les vingt ans, soit que les voies d'expansion ne se montrent pas favorables à un retour plus fréquent, soit que les aliments à la maladie exigent une période aussi longue pour se reconstituer, soit encore, comme à Rio de Janeiro, que la défense faiblisse. L'homme est ainsi fait qu'il se blase sur la valeur des procédés qui assurent sa sécurité; il se relâche d'abord, puis en arrive à quelque scepticisme sur le danger auquel l'expose son inertie. S'il se fatigue de prendre des

(1) E. MARCHOUX, Fièvre jaune in *Traité d'Hygiène* de Chantemesse et Mosny. J.-B. Baillière, Paris, 1910, p. 403.

mesures dont l'utilité ne lui est pas constamment démontrée, le virus n'est sujet à aucune lassitude et pénètre par toutes les issues qui lui sont ouvertes.

**Taux de *Stegomyia* tolérable.** — Un port comme Dakar ou Rio de Janeiro doit maintenir avec vigueur les *Stegomyia* au-dessous du nombre critique qui permet le développement de la fièvre jaune.

Gorgas a démontré qu'il était inutile d'arriver à l'extinction radicale de l'espèce, problème dont la solution serait illusoire, mais qu'il suffisait d'en diminuer le nombre, assez pour qu'on puisse considérer ces insectes comme rares; si les cas sont eux-mêmes rares, il y a bien peu de chances pour qu'un *Stegomyia*, dont la fragilité augmente avec l'âge et qui compte tellement d'ennemis naturels, puisse piquer un malade et vivre assez longtemps pour devenir infectant. Si théoriquement le fait est vraisemblable, dans la pratique les choses se passent autrement.

**En temps d'épidémie, tout *Stegomyia* peut être dangereux.** — Mais en temps d'épidémie il est peut-être hardi de considérer qu'on soit à l'abri parce que les *Stegomyia* sont assez rares pour qu'il soit malaisé d'en découvrir. Dans ce cas, les chances de contamination sont fréquentes pour les moustiques et, si peu nombreux soient-ils, ils peuvent être dangereux.

C'est sans doute à la raréfaction des *Aedes* dans un milieu où ils sont presque tous contaminés qu'il convient d'attribuer la difficulté d'en découvrir là où ont succombé les savants qui sont morts à la Côte Occidentale d'Afrique.

**En résumé, pour l'Afrique et l'Amérique, entre les lignes isothermes de 20°, un pays n'est à l'abri de la fièvre jaune que s'il y fonctionne en permanence un service de désinfection efficace et que si, la faune culicidienne descendant à moins de dix unités par foyer, le nombre des *Stegomyia* ne dépasse pas 2 p. 100 du total.**

# ÉTUDE SUR LE POUVOIR ROTATOIRE ET LA DISPERSION ROTATOIRE DU SÉRUM, EN FONCTION DU TEMPS ET DE LA TEMPÉRATURE

par P. LECOMTE DU NOUY.

Nous nous sommes proposé, depuis quelques années, d'étudier de façon systématique les altérations subies par le sérum sanguin, et en général par les complexes protéiques de l'organisme, sous l'influence de la température. On connaît depuis longtemps l'importance de cette question au point de vue biologique, et l'existence d'une température critique, aux environs de  $36^{\circ}$ - $37^{\circ}$ , a servi de point de départ à de nombreuses théories. Dans les sciences médicales, en particulier, le phénomène connu sous le nom de « destruction du complément » a fait l'objet de fréquentes discussions, en raison du grand intérêt qui s'attachait au point de vue pratique à l'existence de cette propriété quelque peu mystérieuse du sérum.

Nous avons montré, dans un premier mémoire (1), que l'étude de la viscosité permettait, en se plaçant dans des conditions particulières, de mettre en évidence un phénomène très net, de nature physico-chimique, corrélatif du phénomène biologique, à savoir *un minimum absolu de la viscosité*, aux environs immédiats de la température critique. Nous avons employé pour ces mesures un viscosimètre spécial, échappant aux critiques auxquelles les appareils basés sur l'emploi d'un tube capillaire sont exposés quand il s'agit de solutions colloïdales, et que nous avons décrit en 1923 (2). Nous avons démontré ainsi, entre autres, les deux faits suivants :

1° La viscosité spécifique du sérum (ou viscosité relative par rapport à l'eau, à la même température) est sensiblement constante jusqu'aux environs de  $30^{\circ}$ , et l'élévation à cette tempéra-

(1) Ces *Annales*, 42, 1928, p. 742.

(2) LECOMTE DU NOUY. *J. of Gen. Phys.*, 5, 1923, p. 429.

ture ne détermine aucun changement irréversible dans le sérum : refroidi à 20° sa viscosité est la même qu'avant le chauffage, même si celui-ci a duré une heure (en tube scellé).

2° A partir de 50°, un très léger écart commence à se produire, en général, et entre 56° et 58° la viscosité, qui a atteint sa valeur minima, commence à augmenter, lentement d'abord, puis très rapidement, à partir de 59° ou 60°.

Nous avons montré, en plus, que ce phénomène, précurseur de la coagulation, pouvait s'interpréter, en se basant sur les travaux d'Einstein (1) et de Kunitz (2), comme une hydratation des molécules en solution. Il s'agit donc là d'un phénomène physico-chimique de fixation d'eau, accompagné d'une augmentation du nombre et de la dimension des micelles.

Mais il existe très probablement un autre phénomène sous-jacent qui, étant, lui, la conséquence *immédiate* du chauffage à une certaine température, est la cause déterminante des changements dans les propriétés biologiques, d'une part, et, d'autre part, des modifications dans la nature des relations entre les molécules affectées et les molécules du solvant. Ces modifications entraînent également une différence dans les relations des molécules protéiques entre elles. Il est logique d'admettre que ce phénomène fondamental, cause commune des altérations biologiques et physico-chimiques, est de nature chimique, c'est-à-dire qu'il affecte la structure même de la « molécule de sérum ». (Nous employons à dessein ce terme vague de « molécule de sérum » comme nous l'avons fait précédemment (3) parce que nous ignorons quelle substance constitutive du sérum est affectée par la chaleur, protéine, lipoïde, ou autre, et que d'autre part nous sommes forcés d'admettre que, dans le plasma et le sérum, ces corps sont liés ensemble, bien que la nature des liaisons nous échappe à l'heure actuelle.)

S'il existe véritablement un troisième phénomène qui révèle une altération profonde de la structure moléculaire, et que nous puissions mettre en évidence aux environs de la tempéra-

(1) EINSTEIN (A.). *Ann. der Physik*, 19, 1906, p. 289; 34, 1911, p. 591.

(2) KUNITZ. *M. J. Gen. Physiol.*, 9, 1926, 715.

(3) Voir LECOMTE DU NOUY. *Équilibres superficiels des solutions colloïdales*, Masson, 1929.



ture critique, nous pourrions affirmer que les deux premiers en sont des conséquences directes. C'est dans ce but que nous avons étudié le pouvoir rotatoire de différents sérums, à toutes les températures depuis  $0^{\circ}$  jusqu'à  $70^{\circ}$ .

\*  
\* \*

Les mesures furent effectuées au moyen d'un polarimètre à pénombre Jobin et Yvon, permettant les lectures au  $1/100^{\circ}$  de degré. Les tubes employés étaient tous de 10 centimètres de longueur. La source lumineuse était fournie par une lampe à vapeur de mercure, dont les rayons passaient par un monochromateur à prisme. La commande du monochromateur, placée à portée de la main de l'observateur, permettait de changer rapidement la longueur d'onde de la lumière employée, afin d'étudier la dispersion rotatoire. La raie indigo ( $\lambda = 4358$  Ångströms), pourtant très intense, est entièrement absorbée. Nous fûmes donc réduit à employer la raie verte ( $\lambda = 4561$  Ångströms), les raies jaunes ( $\lambda = 5769$  et  $5790$ , ensemble), et parfois la raie rouge ( $\lambda = 6234$ ). Le sérum était contenu dans des tubes soigneusement bouchés, ou plus généralement dans des tubes scellés à la lampe, et maintenus à la température choisie dans des bouteilles « Thermos » munies d'un agitateur. La température, fréquemment contrôlée, ne subissait pas, durant des chauffages de l'ordre d'une heure, des écarts supérieurs à  $\pm 0^{\circ}25$ .

Pour la deuxième série d'expériences (coefficient de température) mentionnée dans ce mémoire, il fut nécessaire de monter un appareil spécial de la façon suivante : on utilisa un tube de 10 centimètres à circulation d'eau, muni d'un thermomètre. L'eau de circulation passait dans un réchauffeur électrique, puis dans une pompe centrifuge et enfin dans le manchon du tube du polarimètre, en circuit fermé. La pompe maintenait le liquide en circulation rapide et la température était réglée au moyen d'un rhéostat approprié. Pour partir des basses températures, un serpentin métallique interposé sur le parcours de l'eau était immergé dans de la glace fondante ou un mélange réfrigérant. Le passage de  $0^{\circ}$  à  $55^{\circ}$  se faisait d'une façon continue, aussi lentement qu'on le désirait. Quand la température de la pièce était atteinte ( $20^{\circ}$  environ), et que le

chauffage électrique entrainé en jeu, il suffisait de couper le courant pour maintenir la température sensiblement constante pendant plusieurs minutes, en raison de l'inertie calorifique de l'ensemble et des précautions d'isolement qui étaient prises.

Nous allons exposer les résultats expérimentaux dans l'ordre suivant : 1° influence du temps; 2° influence de la température non prolongée, de 0° à 55° (coefficient de température); 3° influence de la température en fonction du temps; 4° dispersion rotatoire.

#### 1° INFLUENCE DU TEMPS.

Il était nécessaire avant tout de connaître les variations spontanées qui pouvaient se produire en fonction du temps dans le pouvoir rotatoire du sérum, qui est toujours lévogyre.

Dans ce but, on mesura le pouvoir à des intervalles de temps différents. Dans les tables et les figures, les chiffres indiquent la valeur de l'angle dont le plan de polarisation est tourné. Nous avons jugé inutile, tant que les variations seules nous intéressaient, de calculer pour chaque mesure le pouvoir rotatoire spécifique exprimé par

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{L\gamma},$$

ou  $\alpha$  = l'angle dont le plan de polarisation est tourné;  $L$  = la longueur du tube en décimètres et  $\gamma$  = la concentration en protéines, par centimètre cube de solution.

Le pouvoir rotatoire spécifique varie suivant les sérums; sa valeur moyenne est de  $[\alpha] = 58$  pour la raie verte ( $\lambda = 5461$ ),  $[\alpha] = 49$  pour les raies jaunes ( $\lambda$  moyen 5780) et  $[\alpha] = 40$  pour la raie rouge ( $\lambda = 6234$ ). Les valeurs extrêmes observées pour la raie verte furent  $[\alpha] = 52$  et  $[\alpha] = 62$  (sérum de cheval normal).

Les tubes scellés à la lampe étaient généralement séparés en deux lots, dont l'un était conservé en glacière à + 2°, et l'autre simplement dans un tiroir, à la température ordinaire.

TABLEAU I. — Sérum n° 889; cheval, exp. n° 40.  $\lambda = 5780$  (Jaune).

HEURES . . . .	11	12	13,30	14,30	15,30	16,30	17,30	18,30
$\alpha$ . . . . .	3°68	3°68	3°66	3°66	3°66	3°66	3°66	3°66

Cette expérience montre que, dans ces conditions normales, il ne se produit pas, en sept heures et demie, de changements supérieurs aux erreurs expérimentales. Mais ces modifications peuvent atteindre une valeur plus importante, comme le prouve le tableau II.

TABLEAU II. — **Sérum cheval normal n° 2. Exp. n° 42.**

Valeurs de  $\alpha$  luës successivement entre 3 h. 15 et 3 h. 50  $\lambda = 5.780 \text{ \AA}$ .

ÉCHANTILLON conservé en glacière en degrés	ÉCHANTILLON à la température ambiante en degrés
— 3,80	— 3,85
3,90	3,85
3,88	3,90
3,87	3,90
3,87	3,88

Ici les différences atteignent 0°07.

Le tableau III donne les résultats d'une expérience ayant duré quinze jours.

TABLEAU III. — **Sérum cheval normal n° 1. Exp. n° 42 (suite).**

JOURS	1	3	6	9	13	15	ECART max.
	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés
Température ambiante :							
$\lambda = 5780 \text{ \AA}$ (jaune) . . . . .	3,88	3,88	3,90	3,90	3,85	3,86	0,07
$\lambda = 5461 \text{ \AA}$ (vert) . . . . .	4,45	4,43	4,51	4,45	4,41	4,51	0,10
Glacière :							
$\lambda = 5780 \text{ \AA}$ . . . . .	3,86	3,85	3,88	3,79	3,89	3,86	0,10
$\lambda = 5461 \text{ \AA}$ . . . . .	4,51	4,40	4,46	4,40	4,43	4,42	0,11

On voit que les chiffres présentent des écarts atteignant au maximum 0°11. Ces écarts ne sont pas entièrement dus à des erreurs de lecture, car ces erreurs ne dépassent pas  $\pm 0^{\circ}03$ . Ils sont donc déterminés par des changements spontanés dans le pouvoir rotatoire du sérum qui, dans certains cas seulement, oscille autour d'une valeur moyenne. Mais le temps ne semble pas généralement — jusqu'à quarante jours — modifier dans un sens constant le pouvoir rotatoire d'un sérum donné. Au

bout d'un temps variable suivant les échantillons de sérum, on note un obscurcissement très net de la solution (à partir du seizième jour en général). Parfois, on observe un faible accroissement, au bout de quinze à vingt jours, de la valeur de  $\alpha$ .

Ce point étant établi, nous pouvons en toute sûreté aborder l'étude de l'action de la température.

## 2° COEFFICIENT DE TEMPÉRATURE.

Le tableau IV exprime les résultats d'une série de mesures avec du sérum normal. Les chiffres représentent les valeurs de  $\alpha$ , obtenues en soustrayant la lecture au cadran de  $360^\circ$ .

TABLEAU IV.

TEMPÉRATURE	22°	25°	31°	33°	39°	45°	OBSERVATIONS
Raie verte .	4,20	4,17	4,20	4,23	4,23	4,22	Lectures difficiles à partir de 35° à cause de l'assombrissement des plages.
Raie jaune .	3,60	3,62	3,60	3,60	3,62	3,64	
Raie rouge .	2,93	Illisible.					

Le sérum fut laissé dans son tube, sur le polarimètre, et le lendemain (vingt-deux heures plus tard) l'expérience était répétée, le sérum s'étant éclairci spontanément (tableau V).

TABLEAU V.

TEMPÉRATURE	22°	25°	30°	32°	36°	43°	49°	52°	54°	60°	5 MIN. à 60°	10 MIN. à 60°
Raie verte .	4,23	4,21	4,23	4,23	4,16	4,22	4,22	4,22	4,22	4,28	4,33	4,43
Raie jaune .	3,67	3,65	3,67	3,65	3,63	3,64	3,66	3,67	3,68	3,71	3,78	3,85
Raie rouge .	2,94		3,07			3,05		3,03				

Il est clair que jusqu'à  $52^\circ$  aucune modification systématique du pouvoir rotatoire ne se produit, aux trois longueurs d'onde employées. La dispersion rotatoire est donc également constante et la dispersion partielle entre les raies jaune et verte, soit :  $[\alpha]_{5461} - [\alpha]_{5780}$ , est égale en moyenne à  $0^\circ 57$ . Vingt-quatre



heures plus tard, le pouvoir rotatoire de ce même sérum resté dans son tube (et qui, par conséquent avait été soumis au chauffage total indiqué par le tableau V) fut mesuré à nouveau, à la température ambiante, et l'on obtint les valeurs :  $\alpha = 4^{\circ}35$  pour le vert, et  $\alpha = 3^{\circ}90$  pour le jaune. On voit que cette fois le chauffage avait déterminé un phénomène irréversible dans le sérum, le pouvoir rotatoire passant de  $\alpha = 4^{\circ}21$  (moyenne) à  $4^{\circ}55$  et de  $\alpha = 3^{\circ}63$  (moyenne) à  $3^{\circ}90$ . La dispersion rotatoire est affectée elle aussi, et sa valeur partielle  $\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$  passe à  $0^{\circ}65$  au lieu de  $0^{\circ}57$ .

Soupçonnant que les légères variations observées entre  $22^{\circ}$  et  $54^{\circ}$  étaient dues à des erreurs de lecture, nous avons répété cette expérience dans de meilleures conditions, sans nous préoccuper de la dispersion, c'est-à-dire sans faire varier la longueur d'onde de la lumière. En laissant l'angle de rotation constant, l'expérimentateur distingue immédiatement les petites différences, quand il s'en produit, mais il n'est plus obligé de refaire l'égalité des plages constamment, dans des couleurs différentes, ce qui entraîne une cause d'erreur variable avec le coefficient personnel.

Les mesures furent toutes effectuées dans le jaune, cette lumière étant le plus couramment employé, en partant de la température de  $0^{\circ}$  (tableau VI).

TABLEAU VI. — Durée de l'expérience : une heure.

TEMPÉRATURE	$10^{\circ}$	$20^{\circ}$	$22^{\circ}$	$35^{\circ}$	$45^{\circ}$	$50^{\circ}$
Observations. . .	4,03	4,03	4,03	4,03	4,03	4,03
Jaune, 5780. . . .		obscurci	clair			

On peut donc affirmer que le pouvoir rotatoire du sérum pour les raies 5461 (verte) et 5780 (moyenne, jaune) est constant, de même que la dispersion rotatoire, de  $0^{\circ}$  jusqu'à  $50^{\circ}$ ; il n'y a pas de coefficient de température, ce qui implique qu'il ne se produit pas d'altérations de nature chimique dans les substances en solution pour des temps de chauffage ne dépassant pas trente minutes. Il est extrêmement probable que ceci s'applique à tout le spectre visible, car les quelques mesures

qu'il a été possible de réaliser dans le rouge ont été d'accord avec les autres.

Le phénomène d'obscurcissement des plages qui se produit spontanément ou sous l'influence du chauffage, et sur lequel nous aurons l'occasion de revenir, semble être de nature purement physique, et n'affecter en rien les lectures. Un fait curieux est que cet obscurcissement diminue parfois spontanément aussi. On peut imaginer qu'il est lié à un état structural ou dispersif particulier de la solution.

### 3° INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE EN FONCTION DU TEMPS.

Ayant établi le fait que le sérum n'était pas ou peu affecté chimiquement par un chauffage jusqu'à 50° ayant duré plusieurs minutes, il restait à étudier l'influence du temps de chauffage, lorsque celui-ci était prolongé. Pour plus de clarté et pour ne pas encombrer ce mémoire de tableaux de chiffres qui ont l'inconvénient de ne pas faire ressortir les résultats globaux d'une expérience, nous ne publierons qu'un petit nombre de protocoles complets, les autres étant remplacés par des courbes qui permettent d'embrasser une série de mesures d'un seul coup d'œil.

TABLEAU VII. — Chauffage prolongé à 50° (Exp. n° 20)  
Sérum normal de cheval, n° 1.

TEMPS	0 (non chauffé)	10 MIN.	20 MIN.	40 MIN.	60 MIN	2 HEURES
	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés	degrés
Vert . . . . .	4,24	4,24	4,29	4,31	4,37	4,35
Jaune . . . . .	3,68	3,68	3,72	3,72	3,77	3,77
Rouge . . . . .	2,95	3,03	3,10	3,13	3,13	3,13

On voit par cette expérience que jusqu'à quarante minutes de chauffage la valeur de  $\alpha$  est à peu près constante (les différences étant de l'ordre de grandeur des erreurs expérimentales), et qu'à partir d'une heure une légère augmentation se produit. Elle est égale, en moyenne, à 0°10. Deux heures de chauffage ne modifient pas ces valeurs. Cette augmentation ne se produit pas toujours, et dans aucune de nos expériences elle

n'a dépassé les valeurs ci-dessus d'une quantité supérieure aux erreurs expérimentales, soit 0°03.

Les résultats du chauffage à 52°, 54°, 56° et 58° sont donnés par la figure 1. Dans le but de permettre la comparaison des courbes, elles ont été portées sur une seule figure et, comme la valeur du pouvoir rotatoire du sérum non chauffé n'est pas tou-

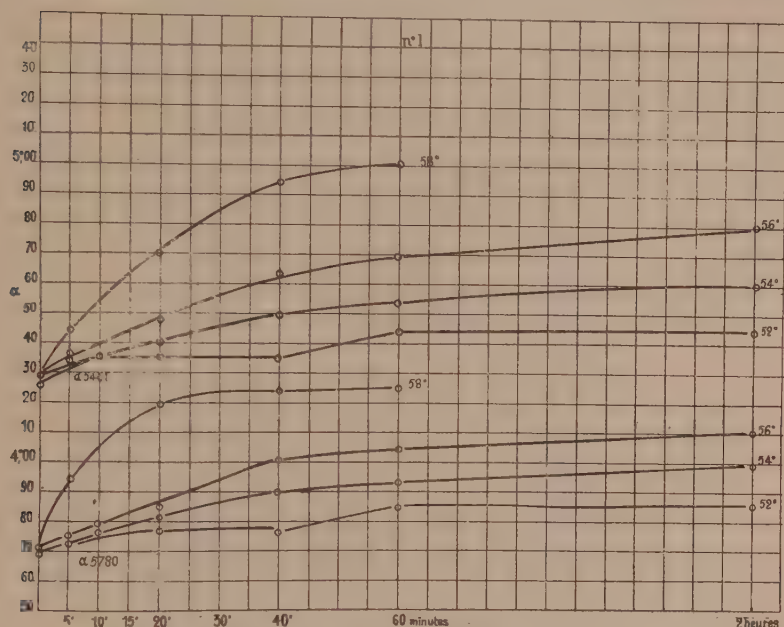


FIG. 1. — Sérum normal de cheval (expérience n° 22). Variations de  $\alpha$  en fonction du temps, à différentes températures (de 52° à 58°).  $\lambda = 5461 \text{ \AA}$  et  $5870 \text{ \AA}$ .

jours la même, nous avons déplacé toute la courbe d'une quantité égale à la différence, quand c'était nécessaire, afin de leur donner toutes à peu près le même point de départ. Par exemple, la courbe de 58°, qui présentait le plus gros écart, a été remontée de 0°08.

On voit déjà sur ces courbes qu'à partir de 58° (dans cette expérience) la vitesse du phénomène augmente rapidement.

La figure 2 montre l'allure des courbes entre 60° et 66°. A partir de 58° il n'est plus possible de faire des mesures après un chauffage de soixante minutes et au fur et à mesure que la

température s'élève l'obscurcissement des plages apparaît plus rapidement. Ce phénomène limite l'observation, et tout se passe comme si l'angle  $\alpha$  ne pouvait s'accroître au delà d'une certaine valeur pour un tube de longueur donnée. Comme nous l'avons déjà fait remarquer ce n'circissement est la conséquence

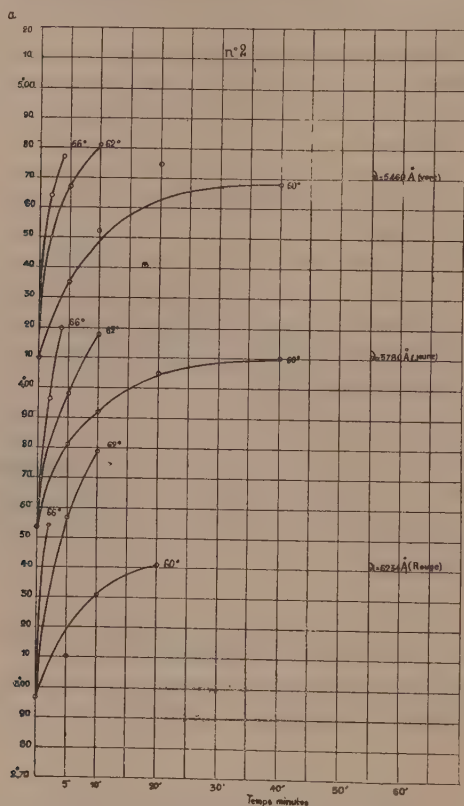


FIG. 2. — Sérum normal de cheval (expérience n° 22, suite). Variations de  $\alpha$  en fonction du temps, à différentes températures (de 60° à 66°).  $\lambda = 5461$ , 5780 et 6234 Å.

du chauffage, mais n'affecte pas les lectures. Lorsqu'un sérum clair s'obscurcit pendant une mesure, ce qui arrive parfois, il conserve la même valeur jusqu'au moment où la lecture devient impossible.

Certains sérums sont normalement presque opaques, et il arrive parfois qu'ils s'éclaircissent spontanément. La figure 3



donne les temps au bout desquels les lectures étaient encore possibles avant l'obscurcissement absolu pour un sérum normal

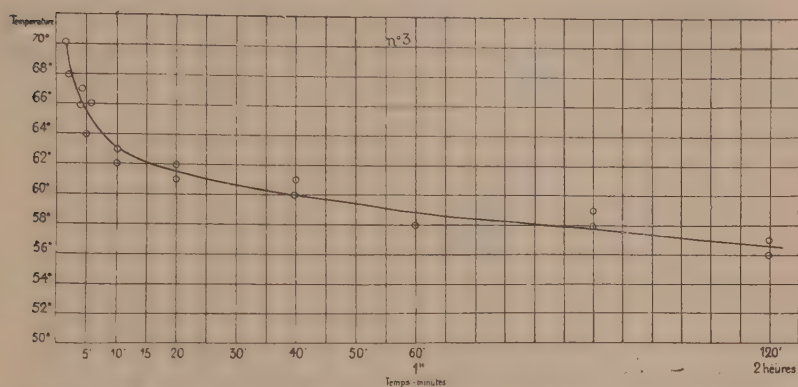


FIG. 3. — Temps au bout duquel les lectures sont encore possibles (limite; tube de 10 cm) avant que le sérum apparaisse noir au polarimètre.

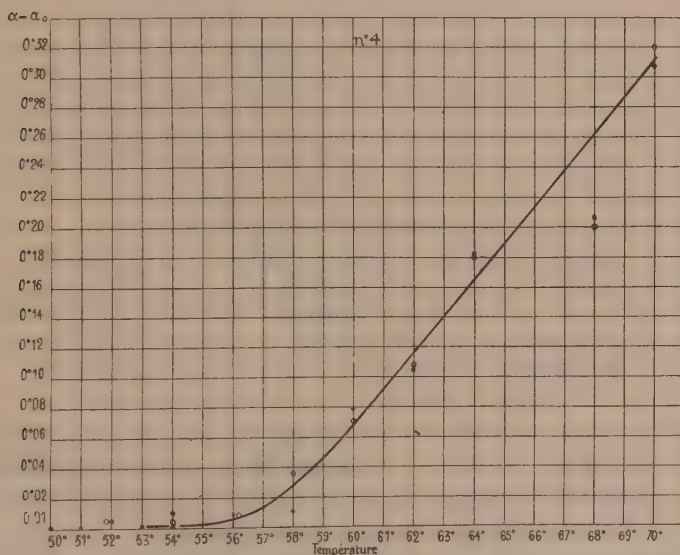


FIG. 4. — Accroissement de  $\alpha$  par minute (« vitesse » de modification du pouvoir rotatoire), dans les 3 premières minutes de chauffage.

de cheval, après chauffage. L'allure régulière et géométrique de la courbe montre qu'il s'agit là d'un phénomène bien déterminé, corrélatif du chauffage. Mais il nous est impossible, à

l'heure actuelle, d'en savoir davantage. Nous nous proposons de reprendre cette question séparément.

Afin de mieux faire percevoir l'allure générale du phénomène d'accroissement du pouvoir rotatoire, nous avons porté sur la figure 4 les accroissements de  $\alpha$  en fonction de la température, dans la première minute de chauffage, ce qui peut

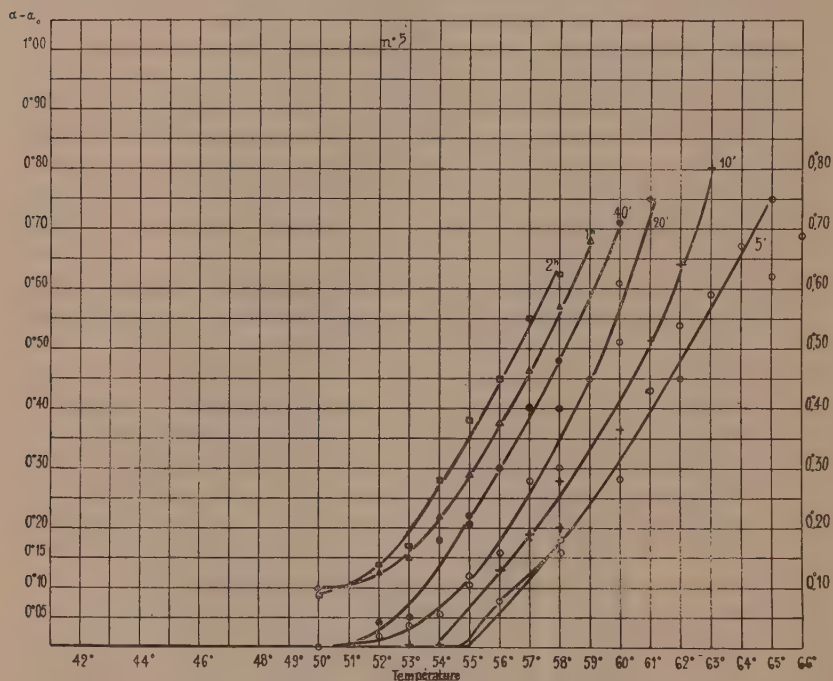


FIG. 5. — Accroissement de  $\alpha$  pour des temps différents de chauffage (de 5 minutes à 2 heures), en fonction de la température.

s'exprimer par la vitesse d'augmentation par minute, dans les cinq premières minutes, en admettant conventionnellement que pendant ce temps l'accroissement soit proportionnel au temps. Les chiffres sont simplement obtenus en divisant l'augmentation en cinq minutes par 5. Nous introduisons ainsi une légère erreur, négligeable d'ailleurs dans le cas présent. On voit que c'est aux environs de 55° que la vitesse prend une valeur supérieure aux erreurs expérimentales, et que l'accélération devient à peu près constante vers 58°. Ces faits seront discutés plus loin.

La figure 5 représente pour un sérum normal les accroissements de  $\alpha$  pour des chauffages de cinq, dix, vingt, quarante,

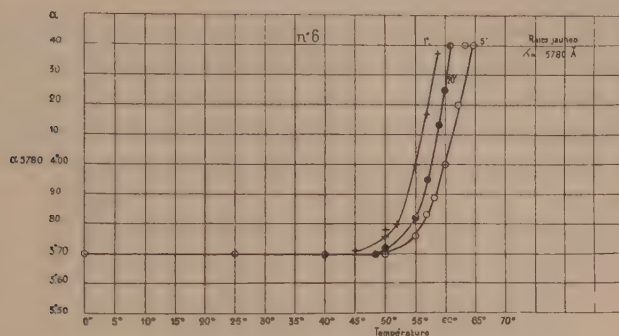


FIG. 6. — Accroissement du pouvoir rotatoire d'un sérum de cheval ( $\alpha$ ) au bout de 5, 20 et 60 minutes de chauffage, en fonction de la température.

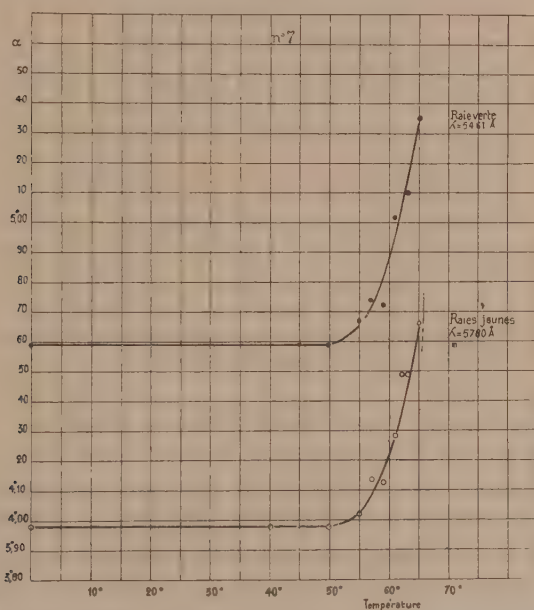


FIG. 7. — Accroissements du pouvoir rotatoire d'un sérum de cheval immunisé (*Perfringens*), en fonction de la température. Chauffage : 5 minutes.

soixante minutes et deux heures. On voit immédiatement que l'altération du sérum consécutive au chauffage dépend moins du temps de chauffage que de la température. Il faut chauffer

deux heures à 55° pour obtenir un résultat à peu près égal à celui que donne cinq minutes à 61°. Deux heures à 58° équivalent à cinq minutes à 63°.

Tous les résultats précédents furent obtenus sur du sérum normal. Il semble que le sérum immunisé se comporte de façon semblable, comme on peut s'en rendre compte par les figures 7 et 8, comparées à la figure 6. On voit en même temps

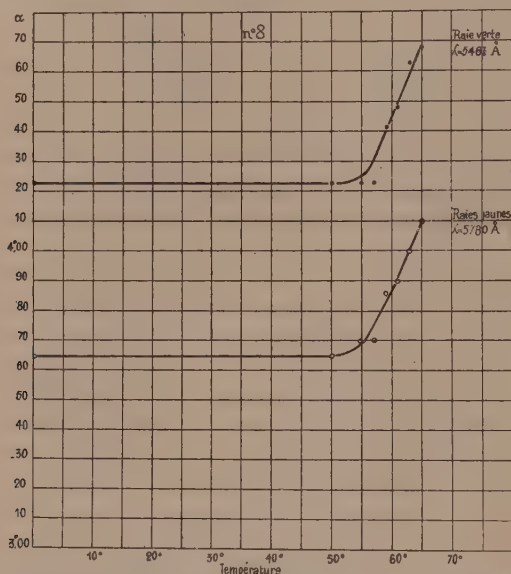


FIG. 8. — Accroissements de  $\alpha$  en fonction de la température. Sérum de cheval immunisé (venin de Cobra). Chauffage : 5 minutes.

que l'augmentation absolue du pouvoir rotatoire peut varier considérablement d'un animal à l'autre mais que la vitesse d'accroissement est sensiblement la même. En effet, dans les trois figures 6, 7 et 8, les trois courbes correspondantes sont superposables (chauffage de cinq minutes) si l'on tient compte du décalage dû à des concentrations différentes en protéines. Ces courbes indiquent clairement l'existence de la température critique du sérum (1).

(1) Un sérum maintenu 48 heures à l'étuve à 38° ne manifeste pas d'accroissement de  $\alpha$  supérieur aux erreurs d'expérience (cheval). Au bout de 96 heures, bien que parfaitement clair à l'œil nu, il est complètement obscur au polarimètre et la mesure est impossible.



## 4° DISPERSION ROTATOIRE.

Les figures 1, 2, 7 et 8, dont les courbes ont été obtenues avec des lumières monochromatiques de différentes longueurs d'onde, montrent l'allure générale du phénomène. Si nous convenons d'appeler, comme nous l'avons fait plus haut, dispersion rotatoire partielle, la différence entre les valeurs de  $\alpha$  en lumière monochromatique verte ( $\lambda = 5461$ ) et en lumière monochromatique jaune ( $\lambda$  moyen = 5780), nous obtenons comme valeur moyenne de vingt-deux séries d'expériences le chiffre  $\alpha_{5461} - \alpha_{5780} = 0^{\circ}543$  (tableau VIII)

TABLEAU VIII. — Valeurs observées  
de la dispersion rotatoire partielle

SÉRUM NORMAL DE CHEVAL	
en degrés	en degrés
0,48	0,41
0,44	0,55
0,55	0,54
0,53	0,57
0,57	0,57
0,60	0,56
0,49	0,60
0,53	0,56
0,53	0,52
0,65	0,55
0,55	0,54

Moyenne = 0,543

Le tableau IX donne les valeurs de  $\alpha_{5461} - \alpha_{5780}$  obtenues avec des sérums chauffés. L'effet étant assez faible, nous avons réuni dans ce tableau les valeurs les plus hautes ayant précédé, dans chaque expérience, l'obscurcissement. Ces valeurs correspondent à des temps et des températures de chauffage très divers. On voit que néanmoins l'accroissement de la dispersion rotatoire partielle varie relativement peu. Exceptionnellement, nous avons observé une valeur de  $0^{\circ}90$  pour un chauffage de trois minutes à  $67^{\circ}$  et une valeur basse de  $0^{\circ}48$  pour un chauffage de deux minutes à  $70^{\circ}$ . Il est impossible à l'heure

actuelle de comprendre clairement le mécanisme de ces phénomènes, et nous devons nous contenter de lois statistiques très approximatives.

TABLEAU IX.

NUMÉROS	TEMPÉRATURE en degrés	TEMPS de chauffage en heures	$\sigma_{5454} - \sigma_{5780}$ en degrés
1 . . . . .	54	2,00	0,61
2 . . . . .	56	2,00	0,64
3 . . . . .	56	2,00	0,64
4 . . . . .	57	2,00	0,60
5 . . . . .	58	1,30	0,66
6 . . . . .	58	1,00	0,65
7 . . . . .	59	1,30	0,76
8 . . . . .	59	1,00	0,74
9 . . . . .	60	0,20	0,70
10 . . . . .	61	0,40	0,71
11 . . . . .	61	0,20	0,71
12 . . . . .	61	0,20	0,75
13 . . . . .	61	0,20	0,71
14 . . . . .	61	0,05	0,66
15 . . . . .	62	0,05	0,66
16 . . . . .	63	0,05	0,74
17 . . . . .	64	0,05	0,75
18 . . . . .	64	0,05	0,73
19 . . . . .	65	0,05	0,71
20 . . . . .	66	0,05	0,66
			$43,79 : 20 = 0,689$

Il est évident qu'il s'est produit un accroissement de la dispersion rotatoire partielle, puisque la valeur moyenne du sérum non chauffé est de  $0^{\circ}543$ , et celle du sérum chauffé de  $0^{\circ}639$ , soit une différence de  $0^{\circ}146$ .

## DISCUSSION.

Les résultats précé lents sont particulièrement intéressants quand on les rapproche des résultats que nous avons rapportés dans notre mémoire précédent sur la viscosité du sérum en fonction de la température. Il suffit pour s'en rendre compte de jeter un coup d'œil sur la figure 9 où sont réunies deux courbes, l'une exprimant les variations de la viscosité; l'autre, celles du pouvoir rotatoire, en fonction de la température.

Nous distinguons en effet un parallélisme frappant entre les deux séries d'expériences : à partir de  $50^{\circ}$  une légère déviation

se produit dans la courbe de viscosité. A partir de la même température, on observe une faible augmentation du pouvoir rotatoire. Vers 55°-57° on remarque en général que la viscosité cesse de diminuer. A la même température, le pouvoir rotatoire commence d'augmenter nettement. A partir de 59-60° la vis-

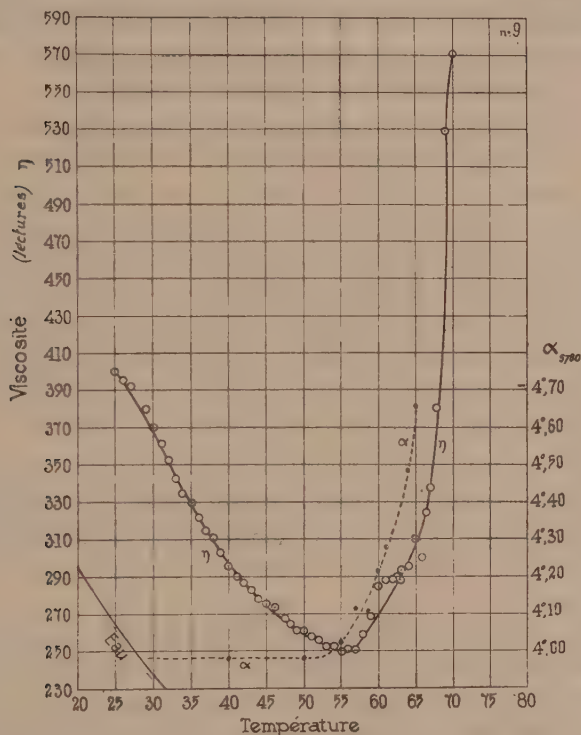


FIG. 9. — Courbes de viscosité et de pouvoir rotatoire de sérum en fonction de la température. On remarquera le parallélisme des courbes à partir de 55°-57°. Le phénomène chimique, révélé par l'accroissement du pouvoir rotatoire, précède le phénomène physico-chimique, l'accroissement de la viscosité.

cosité augmente et vers 61-62° l'augmentation devient très rapide : l'accroissement du pouvoir rotatoire suit la même marche ascendante. Mais les deux phénomènes présentent un léger décalage, le phénomène de polarisation précédant toujours le phénomène de viscosité.

Or, la courbe de viscosité représente un ou plusieurs phénomènes physico-chimiques : fixation de molécules d'eau, agglom-

mération des molécules en micelles, etc. La courbe polarimétrique représente un ou plusieurs phénomènes chimiques, c'est-à-dire affectant la structure et les propriétés physiques et chimiques des molécules du sérum. On peut dire sans crainte qu'il est extrêmement probable que les altérations structurales révélées par le polarimètre soient la cause des modifications de la viscosité, et en particulier de l'existence du minimum absolu. Mais elles sont, de plus, l'origine des profonds changements dans les propriétés biologiques du sérum.

Un phénomène optique nouveau, qui se manifeste par le noircissement des plages du polarimètre, limite les lectures, et tout se passe comme si l'angle de rotation ne pouvait augmenter au delà d'une certaine limite; pratiquement l'augmentation ne dépasse guère  $0^{\circ}70$  à  $0^{\circ}80$ . Dans un cas exceptionnel, nous avons observé un accroissement de  $1^{\circ}$ . Ce phénomène correspond sans doute à l'état structural et colloïdal du sérum. Il n'affecte pas la valeur de  $\alpha$ , et nous avons observé parfois un obscurcissement suivi d'éclaircissement, sans que la lecture au cadran ait changé.

Le problème qui se pose maintenant est simple à énoncer, mais difficile à résoudre. Quelle est la nature de la modification structurale introduite dans le sérum: affecte-t-elle la partie protéique de la molécule complexe de sérum, ou bien une autre partie?

Consiste-t-elle en une destruction d'éléments dextrorotatoires, ou bien en une libération d'éléments lévrorotatoires? Ce sont ces questions que nous avons l'intention d'étudier avec la collaboration de M. Schœn. Elles sont d'importance fondamentale, car leur solution jetterait de la lumière sur certaines propriétés de la substance vivante, en général, pour laquelle cette température de  $55-60^{\circ}$  est également critique.



# **ÉTUDE DE 50 AUTOPSIES D'ENFANTS VACCINÉS AU BCG ET MORTS DE MALADIES NON TUBERCULEUSES**

par J. ZEYLAND et E. PIASECKA-ZEYLAND

Dans la littérature très fournie concernant les vaccinations antituberculeuses par le BCG, on ne trouve que de rares et courtes notices sur des autopsies d'enfants vaccinés.

Calmette (1) signale dans son rapport présenté à la Conférence Internationale du BCG, réunie à Paris en octobre 1928, que, sur le nombre considérable d'enfants vaccinés en France (110.000 au 1<sup>er</sup> octobre 1928) et des milliers de vaccinations pratiquées dans les divers pays, on n'a effectué qu'une dizaine d'autopsies en France et environ 200 autopsies dans les autres pays, y compris les 34 autopsies faites par nous à Poznan.

C'est pourquoi il nous semble intéressant de présenter les résultats actuels de nos 50 autopsies, et ce, moins en raison de leur nombre que parce qu'il s'agit d'une étude systématique et complète. Nous avons pratiqué nos autopsies avec le plus grand soin pour déceler les plus minimes lésions tuberculeuses en les contrôlant par des examens histologiques et bactérioscopiques et en les complétant par des recherches biologiques et bactériologiques.

Pour l'examen histologique, nous avons prélevé tous les tissus présentant des lésions et tous les ganglions lymphatiques hyperplasiés ou même seulement visibles.

Connaissant déjà l'observation de Girod et Debarge (2) qui

(1) *Ces Annales*, 42, décembre 1928, suppl. p. 1.

(2) *Rev. méd. de la Suisse romande*, n° 14, 1927, p. 1011.

ont constaté la présence de bacilles acido-résistants dans la moelle osseuse, qui joue, d'après Askanazy (1), le rôle d'un filtre du sang, nous avons aussi cherché les bacilles dans la moelle osseuse de 31 cas, toutefois toujours avec un résultat négatif.

Pour nos recherches bactériologiques et biologiques, nous avons adopté la méthode suivante : des ganglions mésentériques, des amygdales ou d'autres organes prélevés à l'autopsie furent broyés dans un mortier et émulsionnés avec quelques centimètres cubes d'eau salée physiologique. Une moitié fut injectée sous la peau de la cuisse à des cobayes, l'autre moitié fut ensemencée sur des milieux à l'œuf selon la méthode de Hohn (2).

Dans la plupart des cas où nous avons obtenu quelques colonies de bacilles acido-résistants, il a fallu les réensemencer sur des pommes de terre avec du liquide de Sauton pour obtenir une quantité suffisante de bacilles qui, à la dose de 20 milligrammes en émulsion dans 2 cent. cubes d'eau salée physiologique, furent injectés à deux cobayes. L'un d'eux les a reçus dans le péritoine, l'autre sous la peau de la cuisse. Le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale fut sacrifié au bout de vingt à trente jours, c'est-à-dire au moment où on peut constater les plus grandes lésions après une injection de la même dose de BCG. Le cobaye inoculé sous la peau avec la culture, de même que les cobayes infectés sous la peau avec l'émulsion de ganglions lymphatiques prélevés à l'autopsie, ne furent sacrifiés qu'au bout de six mois. Ce contrôle prolongé des cobayes inoculés était nécessaire pour la constatation de bacilles tuberculeux peu virulents.

Au début, nous n'avons ensemencé que trois tubes; mais après avoir obtenu parfois une colonie uselement sur un tube, nous en employons maintenant davantage, soit quatre à huit. Dans ces conditions, le pourcentage des résultats positifs fut plus grand.

Les résultats de nos recherches sont présentés dans le tableau ci-après.

(1) *Centr. f. Bakt. I, Orig.*, 28, 1926, p. 460.

(2) HENKE LUBARSCH. *Handbuch d. path. Anat.*, 4, 1927.

Ce tableau démontre que nous avons fait des recherches nécropsiques :

1 <sup>o</sup> d'une façon complète, c'est-à-dire en pratiquant l'autopsie, l'examen histologique et bactérioscopique, l'inoculation aux cobayes et desensemencements selon la méthode de Hohn . . .	29 fois.
2 <sup>o</sup> d'une façon semblable, mais sans ensemencement d'après Hohn.	13 fois.
3 <sup>o</sup> en pratiquant seulement l'autopsie, l'examen histologique et bactérioscopique . . . . .	5 fois.
4 <sup>o</sup> en pratiquant l'autopsie seule, ignorant pendant l'autopsie qu'il s'était agi d'enfants vaccinés . . . . .	3 fois.

Les enfants examinés par nous ont été vaccinés par voie buccale dans les dix premiers jours qui ont suivi leur naissance avec trois doses successives de BCG (1 centigramme), selon le principe de Calmette, à l'exception des enfants n° 1, 24 et 35 qui n'ont reçu qu'une dose. Les enfants étaient âgés de quatre à trois cent vingt-trois jours, mais ceux n'ayant que quelques mois étaient de beaucoup les plus nombreux.

Les autopsies démontrent indubitablement que la prémunition par le BCG est inoffensive, c'est-à-dire que le BCG ne peut pas, dans les conditions de la vaccination, déterminer de lésions tuberculeuses, non seulement chez les enfants sains et normaux, mais encore chez les débiles et chez les prématurés.

Dans les cas qui présentaient une micropolyadénite périphérique traduisant, d'après Calmette, une imprégnation du système ganglionnaire lymphatique par les bacilles BCG, nous n'avons trouvé au microscope qu'un catarrhe des sinus, sans bacilles.

En discutant les qualités du vaccin observées dans nos recherches, il importe de ne pas perdre de vue la question de son efficacité, en particulier pour ce qui touche le cas n° 29 où nous avons constaté des lésions tuberculeuses. Voici notre observation pour ce cas :

*Cas n° 29.* — Né le 19 mars à la clinique obstétricale, pesant 2.700 grammes, a reçu les trois doses de BCG les premiers jours suivant sa naissance. La mère, avec son enfant, sort de la clinique le 1<sup>er</sup> avril et se rend chez elle où règnent de misérables conditions de logement (dans une chambre et une cuisine logent à demeure 8 personnes; en outre beaucoup de gens y passent la nuit). Dans cet état de choses, l'exposition à l'infection bacillaire est très probable, mais cependant elle ne put être prouvée, vu que de nombreuses personnes toussant y habitant se sont soustraites constamment aux examens médicaux. Le 21 juin, l'enfant fut admis au service pour une dyspepsie grave et il mourut le 25 juillet, pesant 2.520 grammes.

NUMÉRO	ÂGE en jours	POIDS en grammes	CAUSE DU DÉCÈS d'après les données cliniques et nécropsiques	RECHERCHE histologique des lésions tuberculeuses	RECHERCHE bactériologique des bacilles	INOCULATION des cobayes	ENSEMENCEMENT selon la méthode de Hohn		REMARQUES
							des ganglions mésentériques	d'autres tissus	
1	4	2.000	Débilité congénitale (jumelle).	—	—	—	0	0	Une seule dose de BCG.
2	13	3.180	Foyer d'hémorragie cérébrale.	—	—	—	0	0	
3	41	4.930	Débilité congénitale (jumelle).	—	—	—	0	0	
4	33	2.380	Broncho-pneumonie hémorragique bilatérale. Absès cutanés multiples.	—	—	—	0	0	
5	66	4.600	Broncho-pneumonie bilatérale.	—	—	—	0	0	
6	11	2.950	Atrophie générale. Broncho-pneumonie suppurative bilatérale. Pleurésie purulente droite. Oûte moyenne supprimée droite.	—	—	—	0	0	
7	78	1.740	Atrophie générale. Absès profond du fémur.	—	—	—	—	0	
8	12	1.230	Débilité congénitale (prématuré).	—	—	0	0	0	
9	15	2.350	Erysipèle.	—	0	0	0	0	
10	87	1.830	Atrophie générale (prématuré).	—	—	0	0	0	
11	72	2.500	Broncho-pneumonie droite.	—	—	0	0	0	
12	53	2.350	Broncho-pneumonie bilatérale.	—	—	0	0	0	
13	80	3.400	Atrophie générale. Intoxication alimentaire. Atrophie générale. Bronchite aiguë.	—	—	0	0	0	
14	48	1.650	Broncho-pneumonie pseudo-lo-baire droite. Intoxication alimentaire.	—	—	—	+	0	
15	45	2.500	Débilité congénitale (prématuré). Broncho-pneumonie bilatérale.	—	—	—	+	0	
16	103	2.600	Atrophie générale. Intoxication alimentaire.	—	—	—	—	0	
17	20	2.880	Ulcères tétanés. Phlegmon du genou gauche. Péritonite fibrineuse. Intoxication alimentaire. Bronchite aiguë.	—	—	—	—	0	



20	36	1.450	Atrophie générale. Erosions de l'estomac. Micropolyadénite clinique : syphilis congénitale.	—	—	—	—	—	0
21	421	1.600	Atrophie générale. Péri-onyxis ulcéreux.	—	—	—	—	—	0
22	9	1.400	Débilité congénitale (prématuré).	—	—	—	—	—	0
23	77	2.430	Atrophie générale. Micropolyadénite.	—	—	—	—	—	0
24	6	1.650	Broncho-pneumonie hémorragique droite. Pleurésie séro-fibrineuse droite. Bronchite aiguë gauche (prématuré).	—	—	—	—	—	0
25	78	2.130	Atrophie générale. Œdème pulmonaire. Ulcère de la région sacrée.	—	—	—	—	—	0
26	84	2.450	Atrophie générale. Broncho-pneumonie bilatérale. Otite moyenne purulente bilatérale. Ulcères de la région occipitale et sacrée.	—	—	—	—	—	0
27	138	2.090	Dyspepsie. Broncho-pneumonie confluente suppurative bilatérale. Hydro-néphrose droite. Pyélite droite.	—	—	—	—	—	0
28	411	2.300	Atrophie générale. Ulcères de decubitus. Broncho-pneumonie bilatérale. Otite moyenne purulente droite.	—	—	—	—	—	0
29	138	2.520	Atrophie générale. Ulcères de decubitus. Quelques tubercules sous-miliaires du poumon gauche et des ganglions trachéo-bronchiques gauches. Absès du poumon gauche. Broncho-pneumonie droite. Atrophie générale. Otite moyenne purulente bilatérale.	+	+	—	—	—	— pneumon.
30	28	2.370	Broncho-pneumonie hémorragique bilatérale. Cyanose. Prématuré.	—	—	—	—	—	0
31	134	4.500	Absès cutanés multiples. Phlegmon de la région occipitale. Bronchite aiguë. Erosions de l'estomac. Rachitisme.	—	—	—	—	—	0

Explication des signes : +, résultat positif; —, résultat négatif; — 0, examen non pratiqué.

Une seule dose de BCG.

NUMÉRO	ÂGE en jours	POIDS en grammes	CAUSE DU DÉCÈS d'après les données cliniques et nécropsiques	RECHERCHE des lésions tuberculeuses	RECHERCHE bactériologique des bacilles	INOCULATION des cobayes	EX-EMENAGEMENT selon la méthode de Hohn		REMARQUES
							des ganglions méastériques	d'autres tissus	
32	93	3.100	Abcès cutanés multiples. Broncho-pneumonie bilatérale. Otite moyenne purulente bilatérale. Erosions de l'estomac. Rachitisme.	—	—	—	—	0	
33	43	3.110	Hypotrophie générale. OEdème pulmonaire.	0	0	0	0	0	
34	82	2.600	Atrophie générale. Broncho-pneumonie bilatérale.	—	—	—	0	0	
35	83	2.420	Atrophie générale. Erosions de l'estomac.	—	—	—	—	0	
36	123	4.000	Erysipèle et phlegmon. Lymphadénite aiguë. Pleurésie fibrineuse gauche. Broncho-pneumonie gauche. Hypotrophie générale.	—	—	—	—	0	
37	72	2.250	Broncho-pneumonie gauche. Bronchite droite. Atrophie générale Prénaturé.	—	—	—	—	0	
38	47	2.010	Bronchite aiguë. Atrophie générale. Syphilis congénitale.	0	0	0	0	0	
39	17	2.750	Atrophie générale. Broncho-pneumonie bilatérale. Angiome du foie.	—	—	—	—	—	
40	38	2.700	Hydrocéphalie interne. Hémorragie du tentorium. Broncho-pneumonie bilatérale.	—	—	—	+	+ amygdale.	
41	96	2.550	Grippe. Broncho-pneumonie bilatérale. Ulcère de la région sacrée.	—	—	—	—	+ amygdale.	Cuti-réaction positive.
42	323	3.750	Grippe. Broncho-pneumonie bilatérale. Rachitisme. Hypotrophie	—	—	—	—	—	



L'examen bactériologique (inoculation au cobaye et commencement d'après Hohn) d'une partie du poumon droit et des ganglions mésentériques indemnes a donné des résultats négatifs. Il nous semble que nous avons prélevé, pour cet examen, un morceau sans lésions tuberculeuses, ce qui n'est pas impossible, vu le nombre minime des tubercules observés dans le poumon.

L'interprétation de ce cas, dans l'état actuel de la science concernant le BCG, ne peut être que la suivante : l'enfant vacciné par le BCG arrive dans un milieu propice à une infection bacillaire avant que l'immunité antituberculeuse ait pu s'établir, ce qui exige un laps de temps de trois à quatre semaines selon les recherches de Calmette.

Par contre, on ne peut pas attribuer ces lésions tuberculeuses à l'action des bacilles BCG qui ne peuvent provoquer de lésions nécrotiques que dans des conditions permettant l'agglomération massive de bacilles dans les tissus, ce que nous avons démontré nous-mêmes dans une étude expérimentale (1). Cependant, dans notre cas, de longues et minutieuses recherches ont pu déceler seulement quelques bacilles acido-résistants.

Ce cas, décrit ici, prouve expressément qu'il y a lieu d'éloigner l'enfant vacciné du milieu contaminé pendant trois à quatre semaines, c'est-à-dire jusqu'à la réalisation de l'état de résistance créé par la prémunition.

Une conclusion d'une grande importance se dégage du fait que nous avons réussi à cultiver, en partant des ganglions mésentériques ou des amygdales des enfants vaccinés, des bacilles acido-résistants. Ces bacilles ont montré, dans nos expériences réalisées sur des cobayes, des qualités identiques à celles du BCG. Nos observations prouvent que les bacilles peuvent pénétrer à travers la paroi intacte du tube digestif, contrairement à l'opinion émise par Nobel et ses collaborateurs (2). Ce fait est de première importance, non seulement pour le problème des vaccinations antituberculeuses par voie buccale d'après Calmette, mais aussi pour les théories du mécanisme

(1) *Ces Annales*, 42, 1928, p. 652.

(2) *Monatsschrift f. Kinderheilk.*, 37, 1927; *Zeitschw. f. Tub.*, 50, 1, 1927.



de l'infection bacillaire, ce que nous avons signalé déjà dans notre note préliminaire (1).

Ayant maintenant à notre disposition un plus grand nombre de résultats positifs, on pourrait tenter d'en déterminer le pourcentage. Nous avons appliqué la méthode de Hohn 39 fois, en utilisant des ganglions mésentériques et d'autres tissus de 29 enfants. Nous avons obtenu des résultats positifs 13 fois des organes de 10 enfants. On peut en conclure qu'un essai de culture sur trois a réussi, mais sans oublier qu'au fur et à mesure de l'amélioration de la technique, les résultats positifs furent plus fréquents, ce que met en évidence le tableau rangé par ordre chronologique. La technique dépend surtout de la qualité des œufs employés pour la préparation des milieux et du nombre de tubesensemencés.

Ayant égard aux difficultés que présentent les tentatives de culture et d'isolement des bacilles dans les cas où l'examen bactérioscopique est négatif, il faut reconnaître le pourcentage élevé fourni par la méthode de Hohn. Elle nous a démontré qu'il est juste d'attribuer au tube digestif son grand rôle de porte d'entrée pour les bacilles tuberculeux.

Le séjour prolongé, atteignant dans un cas (n° 46) quatre mois, des bacilles BCG dans l'organisme infantile qui a une résistance affaiblie par des maladies diverses n'a pas pu modifier évidemment les qualités du BCG et surtout il n'a pas augmenté la virulence du vaccin, ce que prouvent nos expériences faites sur des cobayes. Nos résultats sont donc contraires aux faits publiés par Petroff (2), Korschun (3) et par d'autres, qui prétendent avoir observé chez le BCG une reprise de virulence plus ou moins manifeste. Par contre, il n'est pas aisé de se prononcer sur la diminution de la virulence du BCG.

Il est vrai que nous avons constaté parfois, après une injection de 20 milligrammes de bacilles isolés, des lésions moins accentuées que d'ordinaire, mais nous ne sommes pas enclins à admettre au premier abord, comme Kraus (4), qu'il s'agit

(1) Ces *Annales*, 42, décembre 1928, suppl. p. 61.

(2) *Proc. of the Soc. f. exp. biol. a. med.*, 25, 1927, p. 14.

(3) *Krankheitsforschung*, 5, 1927, p. 1; *Centr. f. Bakt.*, 1, 111, 1929, p. 297.

(4) *Zeitsch. f. Immunitätsforsch.*, 60, 1929, p. 463.

là d'un affaiblissement du vaccin. Nos recherches expérimentales nous ont laissé l'impression que le BCG, à la même dose, est susceptible de provoquer des lésions dont l'intensité varie beaucoup, surtout dans les cas où on a pratiqué des injections intrapéritonéales. Cet effet variable peut être expliqué par des mouvements péristaltiques divers.

Nous soulignons encore un point : deux enfants, n° 41 et n° 49, ont présenté, quelques jours avant leur décès, une cuti-réaction positive. Chez aucun d'eux, à l'autopsie, on n'a pu retrouver les plus minimes lésions tuberculeuses; mais nous avons réussi à cultiver des bacilles ayant les qualités du BCG, de l'un d'eux, en partant de l'amygdale, de l'autre après l'ensemencement des ganglions mésentériques. On ne peut donc considérer la cuti-réaction positive chez ces enfants que comme l'effet de la vaccination au BCG par voie buccale. Cette constatation est en plein accord avec les observations de Nélis (1) concernant les vaccinations de cobayes et avec les recherches de Léon Bernard et de ses collaborateurs (2) faites dans des conditions exceptionnellement favorables, permettant d'exclure avec certitude une infection tuberculeuse accidentelle. L. Bernard a constaté une cuti-réaction positive chez la moitié des enfants vaccinés, et il la considère comme l'expression de l'allergie consécutive à la vaccination buccale par le BCG, ce que nous pouvons affirmer après cette vérification nécropsique.

#### CONCLUSIONS.

Nos recherches nécropsiques sur les enfants vaccinés par voie buccale par le BCG démontrent :

1° Que le BCG est inoffensif et ne peut pas produire de lésions tuberculeuses dans les conditions de la prémunition, non seulement chez les enfants normaux, mais aussi chez les prématurés et chez les débiles;

2° Que les bacilles absorbés par voie buccale peuvent traverser la paroi intacte du tube digestif;

3° Qu'un séjour prolongé du vaccin BCG à l'intérieur de

(1) *C. R. Soc. Biol.*, 97, 1927, p. 1453.

(2) *Bull. Acad. de Médecine*, 100, 1928, p. 1021.

l'organisme infantile, même affaibli par des maladies, n'augmente pas sa virulence;

4° Que le vaccin BCG à lui seul peut provoquer l'allergie tuberculinique;

5° Qu'il est indispensable de préserver l'enfant vacciné contre l'infection tuberculeuse pendant quatre semaines après la vaccination, jusqu'à l'établissement de l'immunité anti-tuberculeuse.

*(Laboratoires d'Anatomie pathologique de la Clinique infantile, Directeur : professeur K. Jonscher et de l'Institut de Microbiologie médicale, Directeur : professeur L. Padlewski, Université de Poznan, Pologne.)*

**SUR LA NATURE DES FORMES ACTINOMYCOSIQUES  
D'ORIGINE BACTÉRIENNE OU MYCOSIQUE  
D'APRÈS DES EXPÉRIENCES RÉALISÉES  
AVEC DES BACILLES BCG VIVANTS ET TUÉS**

par J. ZEYLAND.

Peu de temps après la découverte de l'*Actinomyces*, des observations parurent, démontrant qu'il existe d'autres parasites capables de produire des corps radiés formés par des massues. C'est l'étude des bacilles tuberculeux qui a fourni les plus nombreuses observations à ce sujet.

Coppen Jones (1895) a remarqué, dans les crachats des cavitaires tuberculeux, des amas de massues rappelant les grains de l'*Actinomyces*, ce que Jensen (1918) confirma du reste plus tard. En injectant une émulsion de bacilles tuberculeux dans les méninges et dans le tissu cérébral de lapins, Babès et Levaditi (1897) avaient obtenu des formations semblables aux grains d'*Actinomyces*, présentant un mycélium central en réseau, entouré par une zone très régulière de crosses qui ne se coloraient qu'exceptionnellement par la méthode de Gram. Friedrich (1897) et Nösske (1899) ont décrit de même des amas de bacilles entourés d'une couronne de massues acidophiles, observés dans divers organes de lapins après des injections de bacilles dans l'artère carotide. Lubarsch et son élève Schulze (1899) ont varié les méthodes d'infection en inoculant les bacilles dans les veines, dans les artères et directement dans les organes, en employant diverses souches de bacilles tuberculeux et paratuberculeux, et ils ont observé les mêmes formes actinomycosiques dont seules les propriétés tinctoriales différaient un peu de celles décrites par les autres auteurs. Hölscher (1901), Abbot et Gildershave (1902), puis Limousin (1924) obtinrent d'autre part des résultats positifs au moyen de bacilles paratuberculeux. Dalous (1901) a confirmé dans sa thèse l'observation des formes actinomycosiques du bacille de la tuberculose du type aviaire, décrite déjà par Schulze.



Presque tous ces auteurs ont conclu de ces observations à une parenté entre le microorganisme de la tuberculose et celui de l'actinomyose.

Parmi les hypothèses émises pour expliquer la nature des crosses constituant l'élément le plus essentiel des formes actinomycosiques, celles de Babès et de Bostroem sont les plus connues. D'après Babès, les massues constituent un produit actif du microbe et représentent une expression de défense de sa part. Bostroem et la plupart des auteurs considèrent les massues comme un produit de dégénérescence et de gonflement de la membrane des filaments mycéliens. Seuls Coppen Jones et Jensen supposent des réactions physico-chimiques s'opérant entre les substances qui font partie du microorganisme et de certains éléments du tissu circonvoisin.

Magrou (1919), le premier, a mis en évidence le caractère non spécifique des massues. Il les a trouvées autour des amas de staphylocoques isolés de la botryomycose du cheval. Pour prouver indubitablement la non-spécificité des formes actinomycosiques, il en a démontré la formation dans les reins de lapins auxquels il avait injecté, par voie intraveineuse, des champignons *Monilia albicans*. Des résultats semblables ont été obtenus au cours d'expériences où l'on a employé d'autres champignons : *Aspergillus fumigatus* et, tout récemment, *Sterigmatocystis nantæ* (Nicaud, Nantä, etc.).

Magrou, comme Pinoy et Ravaut, qui ont étudié l'actinomyose du bœuf provoquée par l'*Actinobacillus Lignièresi*, considère les massues comme des productions mixtes dépendant du parasite et de l'organisme.

L'influence de l'organisme devient encore plus évidente dans les observations où l'activité vitale du parasite se trouve exclue. Eastwood (1911) a relevé des formes actinomycosiques dans les poumons d'un lapin après l'injection de bacilles tuberculeux tués. La même observation a été faite récemment (1928) par deux auteurs allemands, Meyer et Mayer, qui ont constaté ces mêmes formes chez trois lapins ayant reçu des injections intraveineuses de bacilles tuberculeux tués par chauffage. Ils soulignent que la substance des massues est fournie par l'organisme-hôte. Ils renoncent à expliquer le mécanisme de la genèse des massues en n'attribuant un rôle, seulement au début

de ce processus, qu'aux cellules géantes et, dans un stade plus avancé, aux polynucléaires. D'après ces auteurs, lors de la formation des dites massues, celles-ci ont d'abord l'aspect d'une couche gélatineuse, homogène et vitreuse, se colorant par l'éosine. L'interprétation de la structure radiaire des massues s'appuie sur l'analogie avec les expériences de Leduc démon-

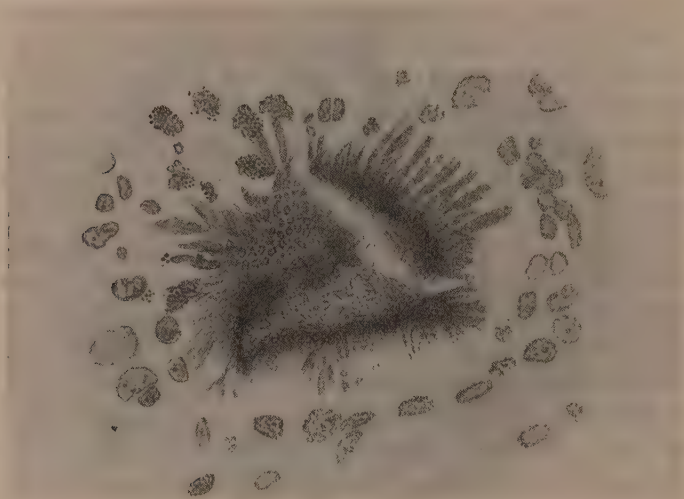


FIG. 1. — Coloration des bacilles par le procédé d'Hermann et des massue à l'éosine selon Friedrich. Remarquer le rapport étroit entre les éosino-  
philes et les massues.

trant les rayons de diffusion d'une goutte d'encre de Chine versée dans de l'eau salée physiologique.

L'observation de Levaditi et Dimanescio-Nicolau (1926) qui ont représenté dans leur note des formations astéroïdes, ainsi qu'ils les appellent, autour de masses inorganiques, est de la plus grande importance. Ils avaient injecté une suspension huileuse de tellure par voie intra-musculaire aux lapins, et, chez l'un deux, ils ont observé des massues typiques (au point de vue morphologique et tinctorial). Ces massues leur semblent être produites par l'organisme-hôte, et selon toute probabilité « aux dépens de quelque principe protéo-minéral provenant en partie de ses cellules, en partie des corps astérogènes, quels qu'ils soient ».

Au cours de recherches faites avec M<sup>me</sup> E. Piasecka-Zeyland sur le pouvoir pathogène du BCG, nous avons eu l'occasion maintes fois d'observer des formes actinomycosiques comparables à celles que je viens de mentionner.

Je tiens à signaler que je n'ai pu constater aucune différence

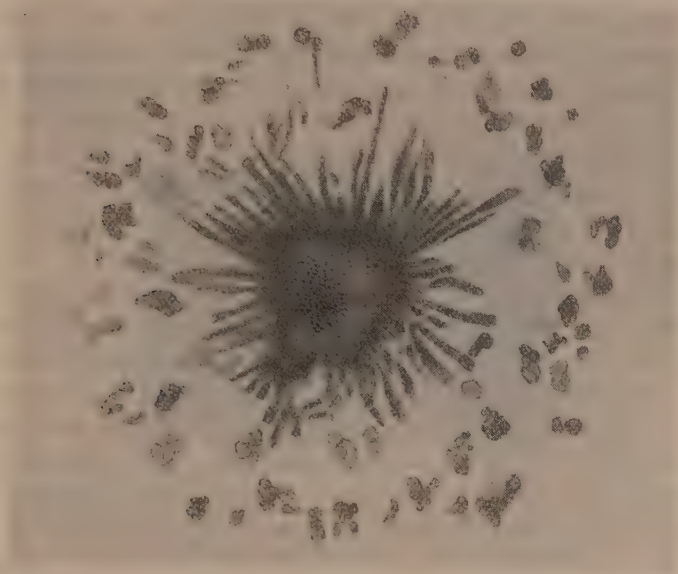


FIG. 2. — Coloration par la méthode combinée de Gram-Weigert et Ziehl.

entre les corps actinomycosiques provoqués par l'injection de bacilles *vivants* et ceux formés autour des bacilles *tués* par chauffage à l'autoclave à 120° pendant trente minutes.

Ces formes se trouvaient chez des lapins dans les conditions suivantes : dans les poumons, après injection intracardiaque dans le ventricule droit, dans des granulations nodulaires après injection intra-pleurale, et surtout dans les reins après inoculation directe dans le parenchyme. Après injection dans l'artère carotide selon le procédé de Friedrich, je n'ai pas observé de formes actinomycosiques.

Ces formes apparaissent très tôt, parfois le dixième jour après l'inoculation. Elles montrent des caractères morphologiques analogues à ceux des formes déjà connues. Mais leurs réactions tinctoriales diffèrent quelque peu.

J'ai obtenu les meilleurs résultats en utilisant la méthode combinée de Ziehl et Gram-Weigert. Elle donne une coloration de contraste : les bacilles se montrent toujours acido-résistants ; leurs granulations et les massues prennent le Gram (fig. 2). La méthode proposée par Friedrich (bacilles au bleu de Victoria, crosses à l'éosine) s'est montrée peu sûre ; c'est pourquoi je l'ai modifiée en colorant les bacilles par le procédé d'Hermann (mélange de solution de violet cristallisé et de solution de carbonate d'ammoniaque) (fig. 4). Cette méthode de coloration de contraste démontre qu'il n'y a presque pas de rapport direct entre les bacilles et les massues. On ne voit jamais se manifester la plus faible acido-résistance des massues bien que les bacilles et les massues contiennent quelques substances qui sont très voisines les unes des autres. J'ai pu m'en convaincre en colorant les coupes par le procédé de Fischler (mordantage au sous-acétate de cuivre, coloration à l'hématoxyline de Weigert et différenciation au ferricyanure de potassium et au borax). Cette réaction met en évidence les acides gras auxquels, selon Camus et Pagniez, les bacilles tuberculeux doivent leur propriété d'acido-résistance. En utilisant cette méthode, j'ai observé que non seulement les bacilles mais encore les massues donnent un résultat positif, ce que Joest a constaté, du reste, à propos de l'*Actinomyces bovis*. Toutefois, après une différenciation plus prolongée, les massues se décolorent plus rapidement que les bacilles. Les figures ci-jointes montrent parfaitement les images obtenues par les procédés décrits. Je me bornerai à indiquer que la forme des massues dépend surtout du stade de développement. Au début, les massues sont toutes petites et courtes ; plus tard la couronne des prolongements radiaires devient plus abondante et la longueur des massues peut atteindre 18  $\mu$ .

Pour ces formes actinomycosiques, la présence d'une zone à polynucléaires est très caractéristique et presque constante. La figure 1 démontre très distinctement le rapport étroit qui existe entre les polynucléaires (éosinophiles) et les massues. Au surplus, de telles images suggèrent que ce sont surtout les granulations éosinophiles qui contribuent à la production des massues. Les massues elles-mêmes semblent parfois être formées par de toutes petites granulations. En 1900, déjà, Benda



a émis l'hypothèse que les polynucléaires neutrophiles jouent un grand rôle dans la formation des massues de l'actinomycose. Cette impression cependant n'est pas corroborée par les préparations colorées au Gram. Jamais je n'ai vu à la place des massues cette couche homogène et gélatineuse qui, d'après Meyer et Mayer, constitue le stade initial de la « réaction en massue ».

*En résumé*, on peut obtenir des formes actinomycosiques des bacilles BCG, et ce, sans aucune différence dans leurs carac-

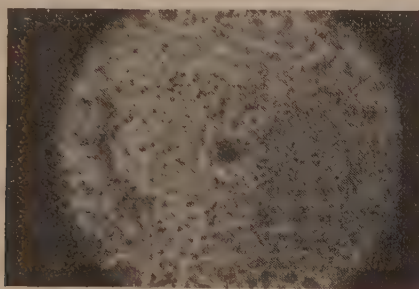


FIG. 3. — Ce microphotogramme met en évidence la couronne de polynucléaires autour d'une forme actinomycosique du BCG.

tères morphologiques et tinctoriaux, en utilisant des bacilles vivants ou tués.

Cette observation confirme l'opinion de Levaditi que les massues constituant la couronne des formes actinomycosiques sont élaborées surtout par les cellules de l'organisme-hôte. Les polynucléaires (éosinophiles) y jouent probablement un certain rôle.

Les massues sont imprégnées par des substances provenant des « corps astérogènes », ce qui semble être démontré, dans les cas qui font l'objet de ma description, par le résultat positif de la réaction de Fischler.

*(Laboratoire d'Anatomie pathologique de la Clinique infantile du Professeur K. Jonscher, Faculté de Poznan, Pologne.)*

## BIBLIOGRAPHIE

- ABBOT (A. C.) et GILDERSHAVE (N.). *Centr. f. Bakt. Orig.*, **31**, 1902.  
 BABÈS (V.). *Zeits. f. Hyg. u. Infekt.*, **20**, 1895.  
 BABÈS (V.) et LEVADITI (C.). *C. R. de l'Acad. Sc.*, **124**, 1897; *Arch. de Méd. exp. et d'Anat. path.*, **9**, 1897.  
 BENDA (C.). *Münch. Med. Woch.*, 1900, p. 753.  
 BOSTROEM. *Zieg. Beil.*, **9**, 1891.  
 CAMUS (J.) et PAGNIEZ (Ph.). *Presse Méd.*, 1907 (cité d'après Calmette, *L'infection bacillaire*, Paris, Masson, 1922).  
 COPPEN (JONES A.). *Centr. f. Bakt. Orig.*, **17**, 1895; **20**, 1896.  
 DALOUS. *Thèse de Toulouse*, 1901 (cité d'après Levaditi et Dimanesco Nicolau).  
 EASTWOOD (A.). *Final report. Royal commiss. of Tubercul.*, app. **5**, 1911 (cité d'après Meyer et Mayer).  
 FRIEDRICH (P. L.). *Deutsche Med. Woch.*, n° 41, 1897.  
 FRIEDRICH et NÖSSKE. *Zieg. Beil.*, **26**, 1899.  
 HÖLSCHER. *Münch. Med. Woch.*, 1901, p. 1483.  
 JENSEN (W.). *Ces Annales*, **32**, 1918.  
 JOEST. *Zeits. f. Inf. d. Haustiere*, **13** (cité d'après Schmorl, *Untersuchungsmethoden*, Leipzig, Vogel, 1922).  
 LEVADITI (C.) et DIMANESCO-NICOLAU (O.). *C. R. Soc. Biol.*, **95**, 1916, p. 531.  
 LIMOUSIN (H.). *Ces Annales*, **38**, 1924.  
 LUBARSCH (O.). *Zeits. f. Hyg. u. Infekt.*, **31**, 1899.  
 MAGROU (J.). *Ces Annales*, **33**, 1919.  
 MEYER (M.) et MAYER (E.). *Zeits. f. Hyg. u. Infekt.*, **108**, 1928.  
 NANTA (A.). *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1928, p. 1785.  
 NICAUD. *C. R. Soc. Biol.*, **99**, 1928, p. 1565.  
 PINOY et RAVAUT. *Presse Méd.*, 1911 (cité d'après Magrou).  
 SCHULZE (O.). *Zeits. f. Hyg. u. Infekt.*, **31**, 1899.  
 ZEYLAND (J.) et PIAŠECKA-ZEYLAND (E.). *Ces Annales*, **42**, 1928, p. 652.

## RECHERCHES SUR LA VIRULENCE DU BACILLE CALMETTE-GUÉRIN

par K. A. JENSEN, J. R. MÖRCH et J. ORSKOV.

(*Institut Sérothérapique de l'État Danois.*  
Directeur : D<sup>r</sup> Th. MADSEN.)

Tout bactériologiste qui entreprend de préparer le vaccin de Calmette-Guérin doit pouvoir, autant que possible, donner aux cliniciens chargés d'utiliser ce vaccin la garantie que la virulence de la souche BCG employée est identique à celle de la souche originelle qu'il a reçue de l'Institut Pasteur. Lorsque nous reçûmes, il y a deux ans, une culture de BCG de l'Institut Pasteur de Paris, on nous dit que cette souche était un « virus fixe », avirulent pour tous les animaux d'expérience et qu'on pouvait le cultiver dans tout milieu apte à la culture du bacille tuberculeux. Il semblait donc au premier abord que la préparation du vaccin fût chose facile aux bactériologistes familiarisés avec la technique dont il s'agit; mais depuis que les diverses communications d'autres savants sur la virulence de la souche BCG et sur son pouvoir immunisant ont été publiées cette préparation comporte plus de responsabilité.

Quand on lit les nombreuses publications sur la virulence de la souche BCG qui ont paru jusqu'à présent, on éprouve le besoin de s'éclairer sur cette question : « la virulence du BCG est-elle réellement « fixe » dans les conditions diverses de culture » ? Dans les mémoires publiés sur ce sujet, la plupart des expérimentateurs affirment que cette souche est privée de virulence (Calmette et ses collaborateurs); d'autres la considèrent comme possédant une certaine virulence (Pétroff et Watson, Mac Intosh et Konst).

Comme c'est le cas pour tout « virus fixe », il semble bien

qu'on ne puisse pas, pour le BCG, exclure complètement l'hypothèse qu'un accroissement de virulence soit susceptible de se produire. Si cependant on ne veut pas renoncer à l'emploi d'un « virus fixe » pour combattre les maladies infectieuses de l'homme, on n'a d'autre ressource que d'étudier à fond les possibilités éventuelles d'une exaltation de virulence.

On pourrait donc supposer que, dans certaines conditions de culture, le BCG puisse récupérer spontanément sa virulence.

Comme garantie contre ce danger d'une récupération de virulence, il convient de rappeler que, dans leur dernière communication, Calmette et Guérin ont rendu beaucoup plus rigoureuses les conditions de culture de leur bacille; ils indiquent qu'après dix passages, par exemple, sur pomme de terre glycélinée on fasse trois passages sur pomme de terre bile, c'est-à-dire sur le milieu qui a servi à réaliser la transformation en BCG à partir de la souche bacillaire, originellement virulente, de tuberculose bovine. En appliquant cette méthode on peut, étant donné la vaste expérience de Calmette et Guérin, être à peu près certain qu'une exaltation spontanée de virulence ne surviendra pas au cours des cultures successives.

L'autre possibilité d'un accroissement de virulence comporte, par rapport à la précédente, un danger beaucoup plus grand. Ainsi on peut imaginer que, par un long séjour dans l'organisme ou par un passage chez l'animal, le BCG puisse récupérer sa virulence. Il n'existe pas cependant, en dehors des communications de Pétroff et de Watson, d'autres exemples de cas de ce genre, et dans les deux cas en question on ne saurait exclure l'hypothèse que la cause véritable est dans les modifications des conditions de culture. On peut faire valoir, en effet, contre ces deux communications, les matériaux considérables d'expérience de Calmette et Guérin et les travaux de beaucoup d'autres expérimentateurs dans ce domaine. Ainsi Tseknovitzter signale que cinq passages successifs chez des animaux, avec intercalation de cultures et inoculation de la même quantité de celles-ci, n'ont provoqué aucun accroissement de virulence.

Les expériences relatées ci-après constituent la partie achevée d'une étude entreprise avec ces idées pour point de départ. Elles comportent en particulier une enquête sur les modifications pathologiques que le BCG provoque par inocula-



tion sous-cutanée, intrapéritonéale et intraveineuse, et par ingestion buccale chez des cobayes. Le BCG utilisé dans ces expériences nous a été expédié directement de l'Institut Pasteur de Paris et a été cultivé pendant deux ans sur bouillon glycérimé. A chaque dixième passage sur bouillon glycérimé on effectuait trois passages sur pomme de terre bile. La culture se développe en deux semaines sur toute la surface du milieu. Nous avons employé dans nos expériences des cultures âgées de moins de trois semaines.

### Série d'expériences n° 1.

#### INOCLATION SOUS-CUTANÉE.

A. — Pour rechercher si la virulence de notre souche de BCG n'augmentait pas dans les conditions de culture données, les diverses générations de la culture ont été injectées par voie sous-cutanée pendant deux ans à des cobayes. On a inoculé en tout 28 cobayes, pesant de 275 à 350 grammes, avec une dose de *5 milligrammes de BCG*. 11 cobayes sont morts d'infections intercurrentes (bactériologiquement vérifiées) et sans indices macroscopiquement visibles de tuberculose, respectivement un demi, un, quatre et demi, six et demi, sept et demi, huit, huit et demi, neuf, dix, onze mois et demi après l'inoculation. 9 cobayes survivent et se trouvent en bon état, respectivement un demi, un demi, un, deux, deux, six, sept, sept et demi, huit mois après l'inoculation, poids : 365-830 grammes. 8 cobayes ont été tués respectivement trois, quatre, huit, neuf, neuf et demi, douze, quinze, dix-huit mois après l'inoculation (poids 500-1150 grammes). Macroscopiquement, ainsi qu'à l'examen microscopique, on ne constata chez ces 8 cobayes aucune trace de tuberculose.

B. — Pour pouvoir suivre la marche du processus, 13 cobayes furent inoculés par la voie sous-cutanée, sur l'abdomen, avec *10 milligrammes de BCG* et furent autopsiés respectivement quatre heures, un, deux, trois, quatre, six, quatorze, trente-six, soixante, cent vingt jours plus tard. 3 cobayes moururent res-

pectivement le cinquième, le quatorzième et le trentième jour, de maladies étrangères à la tuberculose.

CONSTATATIONS MACROSCOPIQUES. — Localement : les premier, deuxième, troisième et quatrième jours, tuméfaction croissante qui, au sixième jour, se délimitait en un abcès de 1/2 centimètre de diamètre. Le quatorzième jour, l'abcès était ouvert et le trente-sixième jour il ne persistait qu'une infiltration insignifiante. Le soixantième et le cent-vingtième jour on ne trouvait qu'une très légère cicatrice laissée dans la peau par la perforation.

Ganglions régionaux : à partir du sixième jour, légère hyperplasie. Dans un seul cas on a trouvé, deux mois après l'inoculation, de la nécrose sous la forme d'un abcès gros comme un grain de chanvre. Le pus contenait des bacilles, mais on n'obtint aucune culture sur milieu de Pétroff, et pas de tuméfaction lors des injections sous-cutanées et intrapéritonéales à des cobayes (durée d'observation : trois mois).

Organes : pas de trace de tuberculose.

EXAMENS MICROSCOPIQUES. — Localement : vingt-quatre heures après l'inoculation, on trouve le tissu sous-cutané infiltré de leucocytes, surtout polynucléaires, avec de nombreux bacilles tuberculeux, les uns extra, les autres intracellulaires. Trois, six, quatorze jours après, formation d'abcès, toujours avec leucocytes en majorité polynucléaires et délimitation croissante de tissu fibreux. Le trente-sixième jour, il ne persistait qu'un tissu granuleux non spécifique. On n'a pas observé de cellules géantes.

Ganglions régionaux : le quatorzième jour après l'inoculation, on découvre de petits foyers de cellules épithélioïdes tendant à se nécroser à leur centre et contenant des bacilles. Le trente-sixième jour on trouve, au milieu de certains de ces amas, quelques rares cellules géantes. Le soixantième jour, même situation. Le cent-vingtième jour on ne trouve ni cellules géantes, ni bacilles.

Organes : Aux trente-sixième, soixantième et cent-vingtième jours, le foie et les poumons présentent quelques petits foyers de cellules épithélioïdes (surtout le trente-sixième jour) contenant des bacilles. Ni cellules géantes, ni caséification.

L'ensemencement sur milieu de Pétroff des ganglions et des organes de tous les animaux a été effectué. On a pu obtenir d'un ganglion régional une culture de BCG jusqu'à trente-six jours après l'infection.

### Série d'expériences n° 2.

#### INOCULATIONS PAR VOIE INTRAPÉRITONÉALE.

10 cobayes sont inoculés par voie intrapéritonéale avec 10 milligrammes de culture de BCG et sont sacrifiés respectivement un, deux, quatre, huit, seize, trente-deux, soixante, cent vingt, trois cent-soixante jours plus tard. Un cobaye est mort de maladie non tuberculeuse quatre jours après l'inoculation.

CONSTATATIONS MACROSCOPIQUES. — Vingt-quatre et vingt-huit heures après l'inoculation, nodules gros comme des têtes d'épingles dans l'épiploon. Le quatrième jour, nodules de la grosseur d'une tête d'épingle à celle d'un petit pois, quelques-uns avec dégénérescence au centre. Le huitième jour, l'épiploon est roulé comme une saucisse sous l'estomac et parsemé de nodules que la coupe montre remplis de pus. Hyperplasie de tous les ganglions. Le seizième jour, l'épiploon a la forme d'un crayon avec de nombreux nodules. Hyperplasie des ganglions, en particulier des ganglions mésentériques.

Un mois : intestin, mésentère et paroi abdominale collés ensemble, formant une masse qui délimite un abcès contenant des bacilles. Epiploon en saucisse de l'épaisseur d'un crayon, avec nodules gros comme des petits pois. Surface du foie parsemée de fins réseaux avec nodules blancs sous-miliaires.

Deux mois : épiploon en crayon. Rate un peu grossie, sans nodules, foie normal, ganglions mésentériques durs, en partie fibreux.

Quatre mois : épiploon en très bon état, un peu petit, mais sans nodules. Foie normal, rate un peu grosse, de même que les ganglions mésentériques.

Douze mois : conditions normales.

EXAMEN MICROSCOPIQUE. — Épiploon : le processus rappelle celui qu'on observe après les inoculations sous-cutanées. Les premier, deuxième et quatrième jours, on trouve des nodules bourrés de leucocytes en majorité polynucléaires, présentant, le huitième jour, les caractères d'un abcès circonscrit par du tissu fibreux.

Un et deux mois : épiploon contenant des abcès délimités par du tissu fibreux ; dans la capsule, cellules épithélioïdes et quelques cellules géantes avec bacilles.

Quatre mois : on constate ici que l'épiploon est en partie en bon état et en partie formé d'un tissu granuleux entouré de tissu fibreux récent, vascularisé, et de petits amas de cellules épithélioïdes. Pas de cellules géantes ni de nécrose, pas de bacilles.

Douze mois : aucun processus pathologique.

Organes : à partir du huitième jour, on trouve dans le foie et les poumons de petits amas de cellules épithélioïdes, surtout développées un à deux mois après l'inoculation, et contenant alors quelques cellules géantes avec des bacilles, mais ne présentant jamais de nécrose.

Quatre mois : dans le foie, seulement faibles restes de ces petits nodules sous forme de fines stries de tissu fibreux jeune.

Douze mois : absence de processus tuberculeux spécifique.

Les petits nodules blancs qu'on observait macroscopiquement à la surface du foie un mois après l'inoculation se sont montrés, à l'examen microscopique, formés de petits abcès contenant des leucocytes surtout polynucléaires et des bacilles. Tissu nécrotique du foie séparé du tissu normal par du tissu fibreux. A cause de leur siège superficiel, ces processus doivent être considérés comme des expansions de ceux de la cavité péritonéale.

Dans un ganglion mésentérique, petits amas de cellules épithélioïdes avec quelques cellules géantes et des bacilles.

Deux mois : abondant développement de tissu fibreux.

On a fait des cultures de tous les organes : épiploon et ganglions, on a pu obtenir une culture de BCG jusqu'à trente jours après l'infection.



## Série d'expériences n° 3.

## INOCULATIONS PAR VOIE INTRAVEINEUSE.

10 milligrammes de culture de BCG sont injectés par voie intraveineuse dans la veine auriculaire (même technique que pour l'injection intraveineuse dans la veine du cou chez la souris) à 11 cobayes, que l'on a sacrifiés respectivement deux heures, un, deux, six, quatorze, trente-cinq, soixante, cent soixante, trois cents jours après l'inoculation.

Deux cobayes succombèrent à des causes diverses, non tuberculeuses, les centième et cent-vingtième jours.

CONSTATATIONS MACROSCOPIQUES. — Au sixième jour, hyperplasie de tous les ganglions, qui s'est maintenue jusqu'à cent soixante jours. Aux trente-cinquième et soixantième jours, on observe aussi une augmentation de volume de la rate et quelques nodules sous-miliaires dans le foie. Jusqu'à soixante jours, le poumon est plus dense (légèrement pneumonique) qu'à l'état normal.

EXAMEN MICROSCOPIQUE. — Poumons : deux heures après l'inoculation, on constate que la majorité des bacilles s'est concentrée; les uns sont isolés, d'autres en petits amas qui obstruent les fins capillaires. Dans les autres organes, il y a moins de bacilles et pas d'amas.

Vingt-quatre heures : réaction nette sous forme d'agglomération de leucocytes poly et mononucléaires dans les septa. De plus, processus exsudatifs dans les alvéoles (leucocytes en majorité polynucléaires). Au bout de deux, six, quatorze jours, il se forme des nodules disséminés. Au début, ces nodules sont abondamment infiltrés de leucocytes polynucléaires; plus tard, ils sont formés de cellules épithélioïdes, en partie dans les septa, en partie autour d'un ou de plusieurs alvéoles. Ces processus sont surtout abondants et accentués un à deux mois après l'inoculation. On trouve alors quelques cellules géantes et des bacilles, mais il se produit ensuite une régression.

Cependant, au cent-soixantième jour, on rencontre encore de petites agglomérations de cellules épithélioïdes et de tissu conjonctif avec des bacilles.

Coulaud [3] a fait, à l'Institut Pasteur de Paris, des expériences analogues sur des lapins, et les processus décrits par nous ressemblent beaucoup à ceux qu'il a observés. Coulaud décrit le processus pulmonaire comme étant purement exsudatif, et déclare que les septa n'y sont pas compris, ce qui explique la *restitutio ad integrum* qu'il a signalée. Si nous avons vu que le processus est également prolifératif dans les septa, cela tient certainement à ce que l'émulsion bacillaire que nous avons employée dans nos expériences était moins fine, de sorte que l'élimination des bacilles des septa par phagocytose a été plus difficile.

Le foie et les autres organes ont présenté les mêmes particularités que celles que nous avons signalées pour l'inoculation intrapéritonéale.

On aensemencé des fragments pulpés de divers organes sur milieu de Pétroff. Quinze jours après l'ensemencement, on obtenait déjà un développement de colonies clairsemées (une culture est obtenue au plus tard trente-cinq jours après l'infection), devenues plus apparentes après trente-cinq jours environ. Dans les poumons des cobayes inoculés par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale ou intraveineuse, nous avons observé, dans plusieurs cas, et cela même jusqu'à dix-huit mois après l'inoculation, de petites agglomérations arrondies de lymphocytes, mais nous n'y avons jamais trouvé de cellules géantes, ni de nécrose, ni de bacilles, ni de formations périphériques de tissu fibreux. Nous n'avons jamais réussi non plus à en obtenir des cultures de bacilles.

Ces expériences démontrent que la souche BCG que nous avons utilisée a fourni, en ce qui concerne les caractères de virulence, sur les cobayes adultes et dans les conditions de culture ci-dessus décrites, des résultats identiques à ceux qu'ont signalés Calmette et Guérin.

Ayant inoculé par voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse, avec 5 milligr. à 1 centigramme de BCG, en tout 62 cobayes, et ayant fait l'autopsie de ces animaux respectivement de un jour à dix-huit mois après l'inoculation, nous

n'avons observé en aucun cas de traces de tuberculose progressive. Les processus constatés pendant les trois premiers mois après l'inoculation sous-cutanée, ou intrapéritonéale, ou intraveineuse, étaient purement locaux et ne se distinguaient pas essentiellement des processus qui suivent l'injection de la même quantité de culture tuée (expériences faites par l'injection intrapéritonéale). Il se produit, après ce laps de temps, une *guérison spontanée*, de sorte qu'à une date plus tardive on n'observe plus, ni macroscopiquement ni microscopiquement, de *processus tuberculeux spécifique*. Il n'a jamais été constaté de généralisation, au sens vrai de ce mot, des processus tuberculeux locaux.

Ces expériences fournissent une base permettant d'établir désormais une comparaison des diverses souches de BCG employées pour la préparation du vaccin, de telle sorte que nous serons désormais en état de donner, aux cliniques qui emploient le vaccin, la garantie que la virulence de celui-ci est identique à celle de la souche originelle de Calmette-Guérin.

Cependant il ne suffit pas, pour cette comparaison, d'inoculer 5 milligrammes de culture sous la peau à des cobayes, car cette expérience nous apprend seulement que la souche n'est pas devenue virulente, sans nous indiquer si la virulence a diminué. Bien qu'on puisse objecter que le pouvoir immunisant de cette souche dérive peut-être de propriétés toutes différentes, une expérience dans ce sens donnera cependant une garantie dans la préparation du vaccin, et nous estimons qu'on peut comparer la génération qu'on veut employer à la génération originelle par l'inoculation intrapéritonéale de 10 milligrammes de culture. En faisant l'autopsie d'un animal après six semaines et d'un autre après cinq mois par exemple, on pourrait se rendre compte, dans une certaine mesure, s'il s'est produit des modifications dans la virulence de la souche.

## Série d'expériences n° 4.

## INGESTION.

On peut encore expérimentalement approcher de plus près les conditions dans lesquelles le vaccin est utilisé en clinique.

Calmette et Guérin emploient, on le sait, à peu près exclusivement l'ingestion buccale du BCG pour la prémunition des enfants nouveau-nés. Or, en lisant la littérature à ce sujet, on constate que la majorité des expériences relatives à l'étude de la virulence du BCG ont été faites par administration parentérale à des animaux adultes. Nous citerons les expériences suivantes comme un exemple des surprises auxquelles on est exposé en pareil cas. En donnant à manger à des souris adultes une souche de B. paratyphique et en examinant bactériologiquement leurs organes après des temps variables, on a constaté que les follicules et les ganglions mésentériques étaient infectés de façon constante, tandis que les organes et le sang demeuraient stériles. On a constaté aussi que l'infection était absolument inoffensive pour les souris adultes et que toutes survivaient. Par contre, si l'on infectait des très jeunes souris âgées de un à deux jours, il survenait toujours une infection générale, avec bacilles paratyphiques dans tous les organes comme dans le sang, et beaucoup de ces jeunes succombaient à l'infection. Mais si l'on attendait, pour les infecter, que ces jeunes eussent atteint l'âge d'une semaine, ils se montraient déjà beaucoup plus réfractaires. Nous n'examinerons pas si ce fait provient de la perméabilité plus grande de l'intestin, ce que pourraient indiquer les recherches de Disse [4], ou s'il tient à d'autres causes; nous faisons simplement observer la grande différence qu'il y a, *quant à l'intensité de l'infection, entre les animaux nouveau-nés et les animaux plus âgés.*

Il nous a donc paru rationnel d'expérimenter la virulence de la souche de BCG administrée par *ingestion buccale* à des cobayes nouveau-nés. 18 jeunes cobayes âgés de deux et cinq jours reçurent dans leur nourriture 50 milligrammes de culture BCG (la culture est émulsionnée dans du lait et adminis-



trée aux jeunes animaux au moyen d'un petit biberon). Ces jeunes cobayes se développèrent très normalement, et pesaient, à l'âge de cinq mois, de 500 à 600 grammes. Au bout de deux, trois et demi, cinq et sept mois, on soumit chacun d'eux à une réaction intracutanée de tuberculine (0,4 cent. cube d'une solution à 1 p. 9 de tuberculine brute). Voici les résultats obtenus :

A deux mois, 17 p. 100 de réactions tuberculiniques positives.

A trois mois et demi, 24 p. 100 de réactions tuberculiniques positives.

A cinq mois, 53 p. 100 de réactions tuberculiniques positives.

A sept mois, 13 p. 100 de réactions tuberculiniques positives.

Ces chiffres concordent fort bien avec ceux de Valtis et Saenz [5] qui, dans le laboratoire de Calmette, ont effectué des expériences analogues. Par contre, dans nos expériences, la réaction tuberculinique s'est maintenue constamment positive pendant les sept mois qu'a duré l'expérience, lorsque cette réaction avait d'abord été positive.

Un jeune cobaye à réaction tuberculinique positive et un autre à réaction négative furent sacrifiés deux mois après l'ingestion. Ils présentèrent à l'examen microscopique quelques petits conglomerats de cellules épithélioïdes dans le foie et les poumons. Chez l'animal à réaction positive on trouva, dans un de ces petits conglomerats du poumon, une cellule géante avec quelques bacilles. Il y avait un peu d'hyperplasie des ganglions mésentériques, mais ni l'examen microscopique ni la culture ne révélèrent de bacilles ni de processus qu'on pût considérer comme tuberculeux.

Deux jeunes cobayes (un négatif et un positif à la tuberculine) furent sacrifiés quatre mois et demi après l'ingestion. A l'examen microscopique des organes et des ganglions on trouva, dans les poumons de l'animal à réaction positive, quelques petits amas de cellules épithélioïdes (8-10 cellules) entourés d'une capsule forte, épaisse, de tissu fibreux (mais pas de bacilles ni de cellules géantes). Dans le foie, un seul petit amas de cellules épithélioïdes. Les ganglions ne présentaient pas de processus tuberculeux et on ne trouva aucun bacille à l'examen direct. Chez le cobaye à réaction négative on ne constata aucune altération tuberculeuse. Des prélèvements

opérés sur les organes et ganglions des quatre animaux furent mis en culture dans le milieu de Pétroff, mais on n'a obtenu de colonies dans aucun cas.

Quatre jeunes cobayes à réaction positive succombèrent à la pasteurellose environ six mois après l'ingestion ; ils ne présentaient à l'autopsie aucune trace macroscopiquement visible de tuberculose.

Dans une autre série d'expériences, 18 jeunes cobayes, âgés d'environ quinze jours, reçurent dans leur nourriture trois fois 20 milligrammes de culture de BCG. A l'épreuve tuberculitique, faite deux mois après, 39 p. 100 réagirent positivement.

Ces expériences sur l'effet de fortes doses de BCG administrées par voie buccale à des cobayes nouveau-nés concordent tout à fait avec nos expériences antérieures sur la virulence de la souche BCG administrée aux cobayes adultes par voie sous-cutanée, intrapéritonéale ou intraveineuse. La culture de BCG peut aussi provoquer, par ce mode d'infection par voie buccale, de légères altérations nodulaires qui guérissent et qui, dans un délai d'observation de six à sept mois, n'ont pris en aucun cas le caractère d'une tuberculose générale ou progressive. L'infection a-t-elle pu se produire par aspiration ? C'est ce qu'il est difficile de décider. Nous ferons seulement observer que le vaccin est administré dans des conditions entièrement comparables à celles dans lesquelles il est administré aux enfants.

Nos expériences prouvent aussi que, pour les doses de vaccin utilisées, 73 p. 100 *au moins* des jeunes animaux sont infectés et ont peut-être acquis, de la sorte, une certaine protection contre une infection ultérieure. Des expériences à ce sujet sont en cours.

### Série d'expériences n° 5.

#### ESSAIS D'EXALTATION DE LA VIRULENCE.

Nos expériences ayant pour but de modifier la virulence de la culture du BCG, soit par des conditions de culture particulières, soit par passages chez les animaux, sont encore loin

d'être achevées. Nous désirons cependant résumer ici les résultats obtenus jusqu'à présent.

Un cobaye est inoculé par voie sous-cutanée avec 50 milligrammes de culture de BCG. Il est sacrifié huit jours après. On trouve au lieu d'inoculation un abcès de la grosseur d'une noix avec de nombreux bacilles, ainsi qu'une hyperplasie du ganglion régional. La culture sur milieu de Pétroff est positive, aussi bien celle de l'abcès que celle du ganglion. Le contenu de l'abcès ainsi que celui du ganglion sont inoculés par voie sous-cutanée à deux autres animaux. L'un fut tué dix jours après (l'autre vit et pèse maintenant 500 grammes, à cinq mois), et on ne trouva qu'une infiltration leucocytaire insignifiante au point d'inoculation. Cette infiltration et le ganglion qui contenaient quelques bacilles furent inoculés par voie sous-cutanée à 2 cobayes. L'un a été sacrifié six mois après et l'on n'a trouvé aucune trace de tuberculose à l'examen microscopique comme à l'examen macroscopique. Les ganglions et les organes furent ensemencés sur le milieu de Pétroff, mais il ne s'est produit aucun développement de colonies. L'autre cobaye mourut de pasteurellose deux mois et demi plus tard, sans traces de tuberculose (poids à l'inoculation, 480 grammes; deux mois et demi après, 635 grammes).

Des expériences analogues ont été faites par inoculation intrapéritonéale de 10 milligrammes de culture. Les cobayes furent sacrifiés un mois plus tard et les processus pathologiques furent inoculés par voie intrapéritonéale à de nouveaux animaux. Dans cette série d'expériences on ne réussit pas à observer des altérations d'apparence tuberculeuse au deuxième passage.

Dans une autre série d'expériences, nous avons inoculé à un cobaye des organes et des ganglions d'un autre cobaye, lequel avait reçu par voie intrapéritonéale 10 milligrammes de culture de BCG, et nous l'avons sacrifié quatre mois après; il ne présentait aucune trace de tuberculose. Dans une troisième série d'expériences, 10 milligrammes de culture BCG furent inoculés par voie intrapéritonéale à un cobaye qui fut sacrifié quatre semaines plus tard. En ensemencant sur le milieu de Pétroff des fragments de nodules de l'épiploon, on obtint une culture n° 2 dont 10 milligrammes furent inoculés par voie intrapéri-

tonéale à deux cobayes : l'un d'eux fut sacrifié quatre semaines plus tard ; l'autre vit et pèse maintenant 885 grammes à quatre mois et demi.

On réussit de nouveau à obtenir de l'épiptoon une culture n° 3 sur milieu de Pétroff, et 10 milligrammes de cette troisième culture furent inoculés par voie intrapéritonéale à 3 cobayes, qui à l'heure actuelle, quatre semaines après l'inoculation, se portent bien et ont augmenté de poids. L'un d'eux a été sacrifié quatre semaines après l'inoculation. Il présentait macroscopiquement le même aspect que le cobaye inoculé par voie intrapéritonéale avec 10 milligrammes de la culture originelle BCG. On n'a donc observé, dans cette série d'expériences, aucun accroissement de virulence de la culture de BCG.

En résumé :

Nos recherches sur la virulence de la culture BCG, entreprises avec une souche que nous cultivons depuis plus de deux ans, conformément aux prescriptions de Calmette et Guérin, ont révélé les mêmes faits que ceux qui ont été décrits par ces expérimentateurs et par Coulaud. Nous n'avons encore jamais rien observé qui pût dénoter un accroissement de virulence, survenu spontanément au cours de la culture, ou produit par le séjour du BCG dans l'organisme animal. Les cultures de bacilles que nous avons pu cultiver à l'état pur, et qui provenaient de cobayes inoculés avec le BCG, ont toujours conservé les propriétés du BCG originel.

#### BIBLIOGRAPHIE

1. S. A. PÉTROFF, A. BRANCH et STEENKEN. *Proceedings of the Society for exper., Biol. and Med.*, 1927.
2. F. A. WATSON, C. W. MAC INTOSH et H. KONST. *Journ. of the Am. Vet. Med. Association*, 73, n° 7, 1928, p. 799.
3. E. COULAUD. *Ces Annales*, 1927, p. 289.
4. DISSE. *Berlin. Klin. Woch.*, n° 4, 1903, p. 4.
5. J. VALTIS et A. SAENZ. *C. R. Soc. de Biol.*, n° 37, décembre 1928, p. 1841.



## RÉSULTATS DE LA VACCINATION INTRACUTANÉE CONTRE LA TUBERCULOSE AU MOYEN DU BCG

par ARVID WALLGREN,  
Médecin en chef de l'Hôpital des Enfants-Malades,  
à Gothembourg (Suède).

### A. — RÈGLES GÉNÉRALES :

*Vaccination avec le BCG de manière à obtenir la sensibilisation à l'égard de la tuberculine.*

*Jusqu'à l'obtention de ce résultat, mettre le nourrisson à l'abri d'une infection tuberculeuse.*

**CHOIX DES ENFANTS.** — Les vaccinations ont exclusivement porté sur des enfants non infectés et dans le domicile desquels on avait constaté une source indéniable d'infection tuberculeuse. En dehors de 3 cas seulement, il s'est agi d'enfants âgés d'au moins un an. Au cours de leur vaccination, tous les enfants séjournaient à l'Hôpital des Enfants de Gothembourg.

**PRÉPARATION.** — Les nouveau-nés qui n'avaient pas été exposés à l'infection après leur naissance étaient considérés comme exempts de tuberculose ; on les vaccinait immédiatement. Si les enfants avaient vécu dans un milieu tuberculeux, ils subissaient d'abord des épreuves intracutanées jusqu'à 3 milligrammes de tuberculine. Si l'on obtenait une réaction positive, ils étaient exclus de la vaccination. S'ils ne réagissaient pas au moment de l'admission, ils étaient mis en quarantaine dans l'hôpital pendant six à huit semaines. Durant cette période, on ne les laissait pas venir au contact de personnes tuberculeuses. La durée de la quarantaine était déterminée par rapport à la durée d'incubation de la tuberculose. Un enfant qui ne réagit pas lors de son admission peut néanmoins avoir été infecté, par exemple, durant les derniers jours

de son séjour au domicile; dans ce cas, généralement, l'infection n'est pas démontrable au moyen de la tuberculine avant que six à huit semaines se soient écoulées. Si, au bout de ce temps, les enfants ne réagissaient toujours pas à la dose sus-indiquée de tuberculine, on les considérait comme exempts de tuberculose et on les vaccinait.

**MODE DE VACCINATION.** — La vaccination par voie digestive n'a pas été employée, sinon à titre de comparaison avec les méthodes intra ou sous-cutanées. Comme on le sait, après l'administration du BCG par voie digestive, la sensibilité à la tuberculine apparaît, ou bien pas du tout, ou bien, en règle générale, très tardivement. La vaccination par voie digestive fut employée quatre fois sans qu'après un laps de temps allant de trois à huit mois l'allergie tuberculinique se fût manifestée; deux fois l'allergie apparut au bout de trois mois.

Nous observions le principe que la vaccination n'était considérée comme ayant réussi que si elle avait pour conséquence une sensibilisation à l'égard de la tuberculine; mais comme les enfants, jusqu'à l'obtention de ce résultat, étaient maintenus à l'abri d'une infection tuberculeuse, et comme les parents souhaitaient assez souvent reprendre leur enfant le plus tôt possible, il s'ensuivait que la méthode d'injection du vaccin était la plus appropriée, car c'est elle qui aboutit le plus constamment et le plus rapidement à l'allergie. En ce qui concerne la voie intra ou sous-cutanée, l'une et l'autre, à ce qu'il semble, sont également utilisables. Nous n'avons employé la seconde qu'un petit nombre de fois, à titre d'essai. Quant à la première, nous l'avons préférée dès l'origine, entre autres raisons, afin d'éviter des suppurations locales trop profondes au cas où il se formerait des abcès; dans la suite, il ne s'est présenté aucune raison d'abandonner ce procédé. Les abcès survenant après des injections sous-cutanées furent en effet plus étendus et guérirent plus lentement que ceux observés avec la même dose employée en injection intracutanée.

**DOSES.** — Lors des premières vaccinations (février 1927), nous avons employé les doses recommandées à cette époque par Weill-Hallé et Turpin :  $\frac{1}{4}$  de milligramme à 2 milli-

grammes ; toutefois aucun enfant ne reçut plus de 1 milligramme. Dans la suite, afin d'éviter des réactions locales trop intenses et des lymphadénites régionales suppurées, cette dose fut peu à peu diminuée. Au cours de l'an dernier, nous avons même injecté exclusivement des doses variant de  $1/40$  à  $1/10$  de milligramme ; c'est la dernière qui fut le plus habituellement employée. Les doses les plus faibles étaient généralement réservées aux nouveau-nés et aux nourrissons les plus jeunes.

Si, au bout de deux à trois mois, l'inoculation faite ne donnait pas de résultat local visible, ou d'allergie vérifiable avec des doses intracutanées de tuberculine atteignant jusqu'à 3 milligrammes, nous renouvelions l'inoculation, souvent en recourant à une dose plus élevée. L'injection se pratiquait à la face externe de la cuisse.

L'émulsion du BCG était de concentration variable, car on les préparait de telle sorte que la quantité de liquide injecté fût toujours égale à 0 c. c. 1. Au début, le BCG était cultivé sur un milieu formé de bile, glycérine et pomme de terre ; dans la suite, il le fut sur le Sauton. Quant au liquide de dilution, en vue des émulsions, il est maintenant constitué, sur le conseil du professeur Calmette, par du liquide de Sauton dilué au quart avec de l'eau distillée. Le vaccin était fourni et contrôlé par le laboratoire de bactériologie de Gothembourg (Dr A. Wassen).

**TRAITEMENT ULTÉRIEUR.** — Les enfants vaccinés étaient gardés à l'hôpital des Enfants et transférés dans un asile de jeunes enfants ; ils étaient mis à l'abri de toute infection tuberculeuse virulente jusqu'à ce que la vaccination eût réussi. Un signe objectif de ce résultat et de la modification générale qu'entraîne dans l'organisme une vaccination réussie est l'apparition de la sensibilité à la tuberculine. Quand l'enfant était devenu allergique, on considérait la vaccination comme ayant réussi. Nous ne regardons pourtant pas l'allergie comme un équivalent de l'immunité, ni comme un phénomène toujours contemporain de l'apparition de l'immunité. Si nous en exigeons la présence, c'était uniquement pour des raisons pratiques, afin de fixer une limite à la période, d'une durée fort variable, que réclame en général chaque cas particulier pour que l'effet du vaccin vienne à se révéler.

## B. — RÉSULTATS.

Jusqu'ici (30 avril 1929) 61 enfants ont été vaccinés; 6 l'ont été si récemment que la sensibilité à la tuberculine ne s'est pas encore manifestée. Les 55 restants ont été cliniquement suivis après leur vaccination jusqu'à l'apparition de l'allergie et, pour beaucoup d'entre eux, plus longtemps encore. Certains enfants, ceux surtout qui avaient besoin d'être revaccinés, furent obligés de rester bien des mois à l'hôpital avant de se trouver réellement vaccinés et avant que leurs abcès locaux, s'il s'en était produit, se fussent cicatrisés. Du même coup, ils se trouvaient ainsi à l'abri de toute infection virulente à un âge qui est à la fois le plus tendre et le plus réceptif. Quand il s'agit d'apprécier les résultats de la vaccination, il convient éventuellement de tenir un compte sérieux du degré de protection accordé aux enfants. Après leur sortie de l'hôpital, tous les enfants sont demeurés sous notre contrôle; aucun n'a été perdu de vue.

EXPOSITION A LA CONTAGION. — Bien que les enfants vaccinés soient exclusivement des enfants dans le domicile desquels il y avait un bacillaire, tous ne se sont pas trouvés, après l'apparition de l'allergie, en rapport avec des personnes tuberculeuses. Dans quelques cas, le malade avait succombé alors que l'enfant était éloigné de la maison pour cause de vaccination; dans d'autres, le malade avait été envoyé à l'hôpital dès le retour de l'enfant et n'avait pas été en contact avec ce dernier; ou bien encore, soit par prudence et malgré que la vaccination fût faite, soit pour quelque autre raison, les parents avaient exprimé le désir que l'enfant ne revint pas au domicile. C'est ainsi que 19 enfants, après l'exécution régulière de leur vaccination, ne se sont pas trouvés exposés à des risques de contagion durant tout le temps qui s'est écoulé entre leur vaccination et l'instant présent. Quant aux autres enfants, après l'apparition de l'allergie, ils ont tous été exposés à l'infection tuberculeuse pendant un temps plus ou moins long. La nature de la source contagieuse et la durée des risques d'infection ressortent du tableau sui-



vant. La plus longue période pendant laquelle un enfant a été exposé au danger d'infection est de vingt et un mois.

TABLEAU I.

SOURCE CONTAGIEUSE	DURÉE LA PLUS LONGUE de l'exposition à l'infection (en mois) :						TOTAL
	1-3	4-6	7-9	10-12	13-18	19-21	
Mère. . . . .	4	3	5	5	4	2	20
Père. . . . .	1	1	2	4	3	1	12
Autres personnes . .	2			1	1		4
Totaux. . . . .	4	4	7	10	8	3	36

RÉACTIONS LOCALES. — Dans tous les cas, l'inoculation provoquant l'allergie fut cause de modifications locales au niveau du point où se fit l'injection. Ces modifications consistaient en un foyer d'infiltration qui survenait au bout d'un temps variant entre deux semaines et trois mois. Dans quelques cas, ce foyer se résorbait peu à peu spontanément. Mais, en règle générale, il subissait la fonte purulente et formait un abcès superficiel dont le volume allait d'un grain de poivre à une noisette. Après ouverture spontanée ou évacuation du pus contenant le BCG, la guérison survenait entre un mois et demi et trois mois.

En raison des effets variables de la vaccination (ce qui dépendait, entre autres causes, des différences de sensibilité individuelle à l'égard du BCG), les résultats manquaient d'uniformité. Même des inoculations de vaccin provenant d'une culture identique et faites le même jour à des enfants du même âge donnent des réactions toutes différentes. Dans un cas, par exemple, il se produira un abcès local et l'allergie existera déjà au bout d'un mois; dans un autre, il n'y aura ni réaction locale, ni allergie démontrable même après plusieurs mois.

Dans ce dernier cas, l'inoculation vaccinale était renouvelée, parfois avec des doses plus élevées. En règle générale pourtant la revaccination n'était pas retardée plus de deux à trois mois. Pour des raisons pratiques, par exemple en présence du désir des parents de reprendre leur enfant le plus tôt possible,

ou par suite du défaut de place à l'hôpital, l'injection nouvelle était faite après le laps de temps sus-indiqué si l'inoculation précédente n'avait encore produit ni réaction locale, ni allergie. C'est ainsi que 14 enfants ont nécessité de 2 à 4 inoculations avant que la vaccination ait réussi et que l'allergie fût constituée. On n'a pas observé de conséquences fâcheuses à la suite de ces injections répétées. La cause de ces effets négatifs doit être en partie cherchée dans une dose vaccinale trop faible pour l'enfant considéré. Le rapport entre les inoculations positives et négatives, d'une part, et les doses employées, d'autre part, ressort du tableau suivant :

TABLEAU II.

RÉSULTATS	DOSES DE BCG INOCULÉES (EN MILLIGRAMMES) :							
	1	0,5	0,25	0,1	0,05	0,025	0,01	30 par voie buccale
Positifs . . . . .	3	2	2	33	3	1	1	2
Négatifs . . . . .	0	0	0	0	0	3	8	4

Très souvent les ganglions régionaux se tuméfient. Cette lymphadénite se maintient généralement dans des limites modérées et disparaît peu à peu, parallèlement à la résorption de l'infiltrat produit par l'inoculation. Toutefois, chez un enfant, la tuméfaction ganglionnaire persiste encore aujourd'hui sans modification, vingt et un mois après son apparition. Dans 6 cas la lymphadénite vint à suppurer, et dans le pus on retrouva le BCG. L'ulcération consécutive se cicatrisa en deux à trois mois.

Un de ces enfants avait été inoculé le 2 mai 1927, à l'âge de deux mois, avec 0 milligr. 5 de BCG. L'abcès ganglionnaire s'est cicatrisé en septembre 1927. Un an plus tard, en septembre 1928, il se développa un infiltrat dans la portion abdominale du pli de l'aîne, du même côté que la lymphadénite antérieure. Cet infiltrat subit la fonte purulente, et lors d'une visite de contrôle, en avril 1929, il avait le volume d'un œuf de poule. A l'intervention, on découvrit qu'il s'agissait d'un abcès par congestion provenant d'un ganglion suppuré placé au

voisinage de la veine iliaque. En fait, cette adénite iliaque n'était qu'une conséquence directe de la lymphadénite que l'enfant avait présentée un an plus tôt dans le pli de l'aîne. Probablement ce ganglion voisin de la veine iliaque avait subi la fonte purulente en même temps que les ganglions du pli de l'aîne; mais, en raison de son siège profond qui le dérobaux explorations, il n'avait révélé son existence qu'après avoir engendré un abcès par congestion. L'enfant s'était développé normalement et avait vécu avec sa mère phtisique pendant seize mois.

Aucun abcès ganglionnaire régional ne s'est plus produit depuis l'automne 1927. Ces abcès étaient probablement dus, au moins en partie, aux doses trop fortes de BCG que nous employions à l'origine, avant que l'expérience nous eût permis d'établir la dose vaccinale optima. Les quantités de BCG injectées furent : une fois 1 milligramme; trois fois 0 milligr. 5; une fois 0 milligr. 25 et une fois 0 milligr. 1.

**ALLERGIE.** — La sensibilité à la tuberculine ne fut pas exclusivement vérifiée par l'épreuve cutanée, peu sensible, de Pirquet; elle le fut par injections intracutanées de 1 à 3 milligrammes de tuberculine de Koch (Alt-tuberkulin). A cette occasion, nous avons pu constater que la durée de la période préallergique est extrêmement variable, depuis une semaine et demie jusqu'au quatrième mois ou plus.

Quel est le plus long intervalle de temps qui peut s'écouler entre l'inoculation et l'allergie? Il est difficile de le dire, car, ainsi que nous l'avons signalé, nous faisons généralement une nouvelle injection de BCG quand, au bout de deux à trois mois, l'inoculation précédente n'avait pas donné de résultats. Il est probable que, dans certains cas où la dose est trop faible par rapport à la résistance de l'individu, l'allergie n'apparaît jamais; il en est fréquemment ainsi, à ce qu'il semble, dans la vaccination par voie buccale.

Il y a, par conséquent, de très grandes variations dans la durée de la période préallergique (tableau III). Les causes en sont de plusieurs sortes. Il est certain que la quantité de BCG injectée joue un grand rôle; d'une manière générale, plus forte est la dose vaccinale, plus courte est la période préallergique. Sept enfants, qui furent vaccinés avec des doses com-

prises entre 0 milligr. 25 et 1 milligramme de BCG, devinrent allergiques au bout de trois semaines, en moyenne, tandis que 38 enfants vaccinés avec des doses comprises entre 0 milligr. 01 et 0 milligr. 1 ne réagirent qu'après six à huit semaines, en moyenne.

Les variations dans la période préallergique n'en furent pas moins très considérables, même quand on employait une dose vaccinale identique; par exemple, avec une inoculation de

TABLEAU III. — **Durée de la période préallergique dans 47 cas observés cliniquement.**

DOSES VACCINALES (en milligrammes)	DURÉE DE LA PÉRIODE PRÉALLERGIQUE (EN SEMAINES) :																
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1 . . . . .			2		1												
0,5 . . . . .	1	1															
0,25 . . . . .				2													
0,1 . . . . .			1	3	8	10	4	2		1		3					1
0,05 . . . . .						1	1					1					
0,025 . . . . .								1									
0,01 . . . . .				1													
30, par voie buccale.												2					

0 milligr. 1 elle varia de trois à dix-sept semaines. Il s'ensuit que, d'une manière générale, on ne peut jamais savoir à l'avance si la sensibilité à la tuberculine fera suite à l'inoculation, ni surtout à quelle date elle apparaîtra.

Quand l'allergie s'établit, elle le fait, à très peu d'exceptions près, sans le moindre bruit et, au début, la sensibilité à la tuberculine est très faible. Il nous a fallu injecter jusqu'à 3 milligrammes de tuberculine pour obtenir une réaction positive. Dans la suite, la sensibilité augmenta peu à peu, mais avec une rapidité inégale suivant les différents cas; c'est ainsi qu'on vit survenir des réactions avec 1 milligramme; après un certain temps avec 0 milligr. 1 et enfin avec 0 milligr. 01. Jusqu'ici nous n'avons pas rencontré de sensibilités supérieures à 0 milligr. 01. Dans ces derniers cas, la réaction cutanée de Pirquet fut elle-même positive.

Une fois établie, l'allergie peut persister très longtemps. Pendant combien de temps? Il est impossible de le savoir actuellement, vu que les enfants n'ont pas séjourné suffisamment long-



temps et sous contrôle dans un milieu exempt de contagé. Dans un cas où l'enfant avait été constamment gardé dans un asile d'enfants, à l'abri de toute infection virulente possible, on obtint encore des réactions positives au bout d'une année. Quant aux enfants qui ont vécu dans un milieu tuberculeux, la détermination de la sensibilité à la tuberculine, au point de vue que nous venons de faire valoir, manque peut-être d'intérêt.

**MORTALITÉ.** — *Aucun des enfants vaccinés n'a succombé.* Comme le sort ultérieur de tous nos enfants vaccinés est connu, le pourcentage de la mortalité est donc égal à zéro. Toutefois, pour juger de l'utilité de la vaccination, il y a certainement une égale importance à prendre la morbidité en considération.

**MORBIDITÉ.** — Que ce soit à l'époque de l'inoculation vaccinale ou bien après apparition de l'allergie, les enfants n'ont pas présenté d'affections graves, si l'on fait abstraction d'un enfant qui, au cours de son hospitalisation, eut une légère pneumonie. Un enfant eut de l'asthme et de l'eczéma, et la plupart subirent des infections aiguës des voies aériennes pendant la durée de leur observation. Tous les enfants qui, lors de l'inoculation, offraient un bon état général et qui étaient bien développés continuèrent, après la vaccination, à se développer d'une manière tout à fait normale. Les six enfants eux-mêmes qui, à la suite de leur vaccination, contractèrent des métastases ganglionnaires régionales avec formation d'abcès ne sont pas demeurés en arrière, à ce moment ou plus tard, sous le rapport de leur développement. Ainsi donc *on n'a pu constater aucune influence défavorable de la vaccination sur la croissance ou l'état de santé des enfants.*

En ce qui concerne les manifestations tuberculeuses, notre rapport sera également négatif. Aucun enfant n'a présenté de symptômes morbides pouvant faire songer à la tuberculose. Nous ne nous sommes pourtant pas contenté des renseignements fournis par les parents ou par les personnes chargées de l'inspection des enfants, car chaque enfant qui séjournait dans un milieu tuberculeux fut régulièrement soumis à un examen spécial, afin de découvrir chez lui les indices possibles d'une contamination tuberculeuse. A ce point de vue, on ne s'est

guère préoccupé de la réaction à la tuberculine. En effet, les modifications tuberculeuses les plus habituelles et les plus précoces, chez les petits enfants qui séjournent dans des familles tuberculeuses, sont les lésions pulmonaires; par suite, on donnait une attention toute spéciale aux poumons et à la région des hiles. A cette occasion, les enfants n'étaient pas seulement soumis aux explorations physiques usuelles; ils étaient de plus *radiographiés*. Dans la majorité des cas, ces visites se pratiquèrent plusieurs fois par an, et pour tous les enfants exposés à la contagion; nous disposons de renseignements fournis par les modes précités d'exploration jusque pendant les derniers mois qui ont précédé ce rapport (avril 1929).

De ces examens ultérieurs, il ressort que, dans 3 cas seulement, on a pu constater des condensations suspectes dans la région du hile. La condensation était figurée par des stries radiaires d'un dessin un peu accusé, mais sans qu'on vit d'ombres ganglionnaires distinctes ou d'infiltrats épituberculeux, comme on l'observe si souvent dans les examens radiographiques concernant les tubercules du hile chez les enfants. Dans l'un de ces cas, il me semble probable que le dessin plus accusé du hile était imputable à une coqueluche en cours; mais, dans les deux autres, on ne pouvait incriminer ni cette cause ni quelque autre affection aiguë pour expliquer l'accentuation du dessin du hile. J'incline donc à penser que, chez ces deux derniers enfants, il existait vraisemblablement une infection des ganglions du hile par des bacilles tuberculeux virulents, et que le dessin exagéré du hile était la traduction radiographique d'une réaction de défense contre l'infection. Un de ces deux enfants avait vécu dans un milieu infecté pendant six mois, et l'autre pendant un an. En tout cas, si l'interprétation de cette insignifiante condensation du hile est exacte, l'infection virulente n'aurait eu qu'une conséquence extrêmement légère; peut-être même convient-il de la regarder seulement comme une trouvaille de l'exploration radiographique, plutôt que comme une manifestation morbide.

Chez les 33 autres enfants, qui vécurent dans un milieu tuberculeux, nous n'avons pu constater ni modifications radiographiques, ni symptômes cliniques, ni même quelque indice permettant de soupçonner une tuberculose.

## RAPPORT SUR 23 ENFANTS PRÉMUNIS PAR LE BCG

par G. KRIKORK (Suède).

Le nombre d'enfants prémunis par mes soins par le BCG n'est que de 23. Cette statistique serait évidemment beaucoup trop petite elle-même pour permettre d'en tirer des conclusions. Trois points pourtant semblent pouvoir lui donner quelque intérêt et justifier sa publication. Ce sont :

1° Tous ces enfants sans exception ont pu être suivis au point de vue de leur morbidité et de leur croissance et ont pu être examinés dans une enquête faite par moi au cours du mois d'avril 1929;

2° Les premières prémunitions datent d'une époque relativement ancienne, la première ayant été faite en septembre 1924, il y a donc plus de quatre ans et demi. 5 enfants ont été prémunis en 1925 et sont donc actuellement âgés de plus de trois ans. Ce sont les premiers prémunis en Suède. 20 des enfants prémunis sont âgés de plus d'un an;

3° La plupart de ces enfants ont été élevés en milieu bacillifère et en contact intime avec une ou plusieurs personnes infectantes.

Tous ont reçu le BCG par voie buccale, selon les conseils du Professeur Calmette, la première dose au plus tard le cinquième jour après la naissance. Pendant les trois premières années, c'est grâce à l'envoi du vaccin par l'Institut Pasteur de Paris, sur avis télégraphique de la naissance d'un enfant à vacciner, que ces prémunitions ont pu être faites. Plus tard, c'est le laboratoire bactériologique de l'hôpital Wallgren, de Gothembourg (D<sup>r</sup> Wassén), qui a préparé et envoyé le vaccin.

Si nous étudions maintenant les résultats de ces prémunitions, tels qu'ils résultent de notre enquête faite en avril 1929, nous constatons tout d'abord les points suivants :

1° Mortalité des enfants prémunis : 0;

2° Morbidité actuelle : 0.

Tous sont donc vivants et bien portants. Il n'est pas trop de

dire que tous sont dans un état de santé florissante. Le poids constaté en avril 1929 dépasse plus ou moins le poids normal des enfants de même âge (selon le tableau de Heubner) pour tous les vaccinés âgés de plus d'un an. Je n'ai pas tenu compte de ceux âgés de moins d'un an.

Si nous envisageons les détails de quelques-unes de nos observations, les faits suivants semblent devoir être notés :

OBSERVATION I. — Ketstin A..., la première enfant vaccinée, née le 30 septembre 1924, vaccinée à un an, a été nourrie par la mère et élevée dans un milieu extrêmement contagieux. Le grand-père maternel et un oncle qui habitent le même logement ouvrier sont atteints de tuberculose avancée et sont parmi les plus forts cracheurs de bacilles. L'enfant vaccinée a été atteinte en janvier 1928 de varicelle, en mars de la même année de rougeole et en avril de scarlatine. Son état, à ce moment, était quelque peu inquiétant, mais elle s'est vite rétablie. Elle était en possession des moyens de défense nécessaires pour vaincre les germes de la maladie.

OBSERVATION II. — Elsebret L..., née le 1<sup>er</sup> juin 1925, revaccinée à un an, a été élevée par sa mère phthisique et morte en avril 1929 de tuberculose pulmonaire. Sauf pendant les dernières semaines de la maladie de sa mère, elle a cohabité avec celle-ci dans un logement très insalubre. Elle a eu la coqueluche en 1927, pas d'autres maladies, et se porte actuellement fort bien.

OBSERVATION III. — Hillevi N..., née le 16 octobre 1925. Revaccinée à un an. Dans cette famille, où il y a onze enfants, c'est le père qui a été la source de la contagion. Il souffrait depuis longtemps de tuberculose pulmonaire, a fait des séjours fréquents dans un sanatorium, mais entre temps il habitait avec sa famille dans un logement d'ouvrier surpeuplé et assez mal tenu. Il est mort de méningite tuberculeuse en octobre 1928. Parmi les onze enfants, neuf ont présenté des symptômes plus ou moins graves d'infection bacillaire. Seule, la plus jeune des enfants, Hillevi, a été prémunie par le BCG. Elle a été élevée, comme les autres, en contact intime avec le père malade, et cela pendant la période de sa maladie, où elle a dû être le plus contagieuse. Cette enfant n'a jamais été malade et jouit d'une santé parfaite. La mère disait à l'enquête que « c'était le seul de ses enfants qui ne lui eût pas donné de sujets d'inquiétude ».

OBSERVATIONS XI et XII. — Ulla S..., née le 19 août 1926, et Jorre, né le 6 décembre 1927 (frère et sœur). Tous les deux ont été élevés par leur mère qui était atteinte de tuberculose pulmonaire chronique de forme fibreuse, d'apparence en bonne santé, mais qui, néanmoins, a infecté plusieurs de ses enfants. Elle a eu neuf enfants vivants, dont deux jumeaux, nés en 1920, et un garçon, né en 1923, sont infectés de tuberculose. L'un d'eux est actuellement soigné dans un sanatorium. Deux autres, nés en 1921 et 1923, sont morts de tuberculose, l'un d'une infection généralisée, l'autre d'une tuberculose solitaire du cerveau (autopsie). Elle a donc eu, de 1920 à 1925, cinq enfants qui sont tous infectés ou morts de tuberculose. Depuis, elle a eu deux autres enfants, en 1926 et 1927, qui ont été prémunis par le BCG et



qui ont été élevés dans les mêmes conditions que les autres, c'est-à-dire par leur mère malade, et même plus malade pendant ces dernières années, dans un logement ouvrier surpeuplé. L'aînée d'entre eux, Ulla, née en 1926, a été atteinte, en 1928, de coqueluche, de rougeole, et ensuite d'une broncho-pneumonie prolongée, probablement de nature tuberculeuse. Elle a été longtemps très malade, et l'on ne pouvait que porter un pronostic très sévère. Mais peu à peu elle s'est rétablie et se trouve actuellement dans un état de santé excellent. Le plus jeune, né en 1927, n'a pas été malade et se porte également très bien.

Il nous mènerait trop loin d'entrer dans les détails de toutes nos observations. Les autres enfants prémunis n'ont pas été exposés à la contagion au même degré que ceux dont j'ai parlé, mais tous appartiennent à des familles où il y a eu une ou plusieurs personnes infectées de tuberculose, et où il y avait lieu d'être sur ses gardes. Comme il a été dit plus haut, tous se trouvent en très bonne santé. Il est difficile de ne pas conclure de cause à effet entre la prémunition par le BCG et la bonne santé de plusieurs de ces enfants.

La prémunition n'exclut certainement pas l'infection par le bacille de Koch virulent, mais les enfants prémunis semblent avoir acquis des moyens de défense contre cette infection qui leur permettent de sortir victorieux de la lutte entre le bacille et l'organisme dans bien des cas où une défaite de celui-ci aurait semblé des plus probables.

# **LA VACCINATION PRÉVENTIVE DES NOUVEAU-NÉS CONTRE LA TUBERCULOSE PAR LE BCG A L'ILE MAURICE**

**(DU 23 SEPTEMBRE 1925 AU 31 MARS 1928)**

par E. MAYA.

C'est en septembre 1925 que nous avons commencé la préparation du vaccin BCG pour la prémunition des nouveau-nés contre la tuberculose. Le vaccin est préparé au laboratoire de bactériologie du Réduit avec une souche de BCG qui nous a été fournie par le Professeur Calmette lors de notre séjour à l'Institut Pasteur de Paris en 1924 et qui est entretenue par culture sur pomme de terre et bouillon de veau glycérimé à 5 p. 100 et milieu de Sauton.

Le vaccin est préparé d'après la méthode du Professeur Calmette, une fois et souvent deux fois par semaine selon la demande, et sa non-virulence est contrôlée régulièrement tous les mois par l'inoculation aux cobayes. Nous n'avons jamais constaté de lésions tuberculeuses chez les animaux ainsi inoculés.

Le vaccin est fourni gratuitement par le laboratoire; il se donne par voie buccale et dans les cas spéciaux par injection sous-cutanée. Les envois portent l'indication de la date ultime pour l'administration de la dernière dose, soit dix jours après la date de la préparation, et à chaque envoi est joint un imprimé précisant le mode d'administration. Ce sont les infirmiers et les sages-femmes des propriétés sucrières et des maternités qui en sont chargés.

Le BCG est toujours facilement accepté par les parents et la généralisation de ce mode de vaccination ne rencontre aucune opposition, l'ingestion du vaccin étant absolument

inoffensive, et ne causant aucun trouble de la digestion, ni aucun malaise.

De septembre 1925 au 31 décembre 1928, 4.407 nouveau-nés ont été vaccinés, soit :

En 1925 (quatre mois) . . . . .	62
En 1926 . . . . .	792
En 1927 . . . . .	1.531
En 1928 . . . . .	2.022

Au 31 mars 1928, 2.791 enfants avaient été vaccinés, se répartissant comme suit :

DISTRICTS	NAISSANCES	ENFANTS vaccinés	POURCENTAGE d'enfants vaccinés
Port-Louis . . . . .	5.258	177	3,3
Pamplemousses . . . . .	3.646	46	1,2
Rivière du Rempart . . . . .	3.548	132	3,7
Flacq . . . . .	4.979	165	3,3
Grand Port . . . . .	4.677	474	10,1
Savanne . . . . .	3.099	768	24,8
Plaines Wilhems . . . . .	9.245	782	8,4
Moka . . . . .	3.271	247	7,5
Rivière Noire . . . . .	1.190	0	0
Total . . . . .	38.913	2.791	7,2

De ce nombre, 1.893 ont pu être suivis ; parmi ces enfants, 88 sont nés de parents tuberculeux et vivent dans un milieu bacillifère. Il a été constaté un seul décès par tuberculose pulmonaire sur un enfant âgé de huit mois, qui vivait en contact avec sa mère tuberculeuse dans de déplorables conditions d'hygiène. La mortalité tuberculeuse des enfants *vaccinés* au-dessous d'un an a donc été de 1,1 p. 100.

Nous n'avons pu nous procurer le chiffre de la mortalité par tuberculose chez les *non-vaccinés*, nés de parents tuberculeux et vivant en milieu contagieux, mais ce pourcentage est en France de 18 p. 100, chiffre contrôlé par les Offices d'hygiène sociale et les dispensaires anti-tuberculeux.

Pour les enfants vaccinés âgés de un an à deux ans et demi, la mortalité par tuberculose a été nulle.

Parmi les 87 enfants restants, après déduction du décès

mentionné ci-dessus, 6 sont morts de causes variées : 1 de laryngite aiguë à deux mois, en contact avec son père tuberculeux ; 1 de débilité congénitale à un mois, en contact avec sa mère et son père, tous deux tuberculeux ; 1 de pneumonie à six mois, en contact avec sa mère et sa grand'mère tuberculeuses ; 1 de syphilis héréditaire à seize jours, en contact avec sa mère tuberculeuse ; 1 d'entérite à vingt jours (né très chétif), en contact avec son père tuberculeux ; 1 de débilité congénitale et de diarrhée, à sept mois, vivant avec sa mère tuberculeuse.

La mortalité générale, c'est-à-dire pour toutes causes de maladies, a été pour ces enfants *vaccinés et en contact tuberculeux* de 9,2 p. 100, alors que la mortalité générale des *non-vaccinés* avec ou sans contact tuberculeux a été de 12,5 p. 100. La mortalité générale des enfants de même âge est donc moins élevée chez les *vaccinés en contact* avec des tuberculeux que chez les *non-vaccinés avec ou sans contact tuberculeux*.

La mortalité générale, c'est-à-dire due à toutes causes, a été de 5,4 p. 100 chez les *vaccinés* et de 12,5 p. 100 chez les *non-vaccinés*. La vaccination préventive par le BCG a réduit de plus de la moitié la mortalité générale des enfants du même âge. Un fait intéressant se dégage très nettement de l'expérience faite pendant ces deux ans et demi ; c'est que la mortalité générale par toutes causes de maladies est plus forte chez les *non-vaccinés* que chez les *vaccinés*. Cette importante réduction de la mortalité générale s'explique par ce fait qui nous a été signalé par plusieurs médecins et que nous-même avons observé, que les enfants *vaccinés au BCG résistent beaucoup mieux que les enfants non-vaccinés aux maladies communes à leur âge* : influenza, broncho-pneumonie, etc., résultat que le Professeur Calmette explique en disant que : « Peut-être faut-il attribuer cette résistance plus grande à une suractivation des organes lymphatiques défensifs sous l'influence des éléments bacillaires non virulents qui ont été absorbés ? En tout cas, ce fait existe, indéniable. »

Du 16 juillet 1926 au 31 décembre 1928, 874 veaux ont été vaccinés par M. E. Liennet, vétérinaire attaché au Département Agricole. Ces animaux n'ont aucunement souffert dans leur croissance et la mortalité a été plus élevée chez les *non-vaccinés* que chez les *vaccinés*.



En terminant, nous tenons à exprimer aux médecins à qui le vaccin a été fourni, et qui ont bien voulu nous retourner les feuilles d'enquête dûment remplies, toute notre gratitude pour leur très précieux concours.

*(Laboratoire de bactériologie. Réduit, Ile Maurice.)*

## LA VACCINATION ANTITUBERCULEUSE PAR LE BCG A MADAGASCAR

par G. GIRARD.

L'Institut Pasteur de Tananarive s'est organisé en 1926 pour pratiquer la vaccination des nourrissons d'après la méthode de Calmette. Dès le mois de décembre, la production de vaccin était suffisante pour satisfaire les demandes nécessairement limitées à Tananarive et à son voisinage immédiat, en raison de la lenteur des communications avec les autres provinces qui ne pouvaient recevoir le vaccin en temps utile. Quelques conférences aux médecins et à l'élite indigène eurent le meilleur effet pour faire connaître le but poursuivi, la valeur de la méthode et surtout son innocuité. La méfiance habituelle du Malgache devant tout procédé nouveau d'immunisation fut rapidement vaincue. La tâche nous fut facilitée par les autorités sanitaires qui appuyèrent fortement notre action et nous trouvâmes une collaboration précieuse à la Maternité de Tananarive où la majorité des enfants nés dans cet établissement furent systématiquement vaccinés (479 en 1927).

Au cours de l'année 1927, 1.538 enfants ont été prémunis dans les dix jours qui suivaient la naissance. Aucune opposition n'a été rencontrée de la part des médecins, sages-femmes ou parents qui savaient fort bien que cette vaccination n'était pas obligatoire et restaient libres de la refuser. Le fait qu'en dehors de la maternité, dirigée par un médecin européen, 1.055 enfants étaient vaccinés sur la seule initiative de praticiens indigènes, appartenant ou non à l'Administration, témoignait d'une confiance intéressante à noter dans ce pays où d'autres vaccinations ne sont pas toujours acceptées spontanément. Cette confiance ne fit que croître en 1928 où le chiffre des vaccinations atteint 2.169.

Au total, 3.707 nourrissons avaient été vaccinés au 31 décembre 1928 et 140 avaient subi la première revaccination. Dans ce nombre figurent seulement 18 enfants européens.

Aucun incident ne nous fut signalé. Les cobayes de contrôle, régulièrement inoculés et sacrifiés après six mois, ne présentèrent jamais la moindre lésion tuberculeuse.

Des dossiers individuels ont été constitués et gardés à l'Institut Pasteur en même temps qu'une carte était délivrée aux parents, carte qui devait être remise au médecin en cas de maladie ou de décès de l'enfant. Mais nous nous sommes bientôt rendu compte que les décès ne nous étaient pas rapportés régulièrement et nous avons dû faire procéder nous-même à des enquêtes afin de savoir ce que devenaient nos vaccinés. Les enquêtes sont des plus difficiles en milieu indigène; le Malgache se déplace constamment et il est souvent impossible de le retrouver quand il change de quartier ou de village. C'est ainsi que, malgré l'intervention active des services administratifs, la moitié des familles ayant donné une adresse à Tananarive lors de la naissance, l'enfant ne put être retrouvé. Notre enquête de sondage dut se limiter en ville à 110 nourrissons, vaccinés depuis un an; 12 étaient morts, soit 10,9 p. 100. Or, la mortalité générale moyenne de zéro à un an a été en 1926 de 17,7 p. 100 et en 1927 de 15,9 p. 100, d'après les statistiques du bureau municipal d'hygiène. En province, l'enquête porta sur 373 enfants. 61 étaient morts au cours de la première année, soit une mortalité de 16,4 p. 100. Mortalité générale moyenne :

En 1926. . . . .	22,6 p. 100
En 1927. . . . .	17,2 p. 100

Nous séparons à dessein les enfants de la ville de ceux de la campagne, ceux-ci ne pouvant bénéficier des œuvres d'hygiène sociale dont l'action s'exerce surtout dans l'agglomération urbaine.

La tuberculose ne fut jamais mentionnée comme cause de décès et nous n'avons pas davantage noté, dans les fiches sanitaires, la relation de symptômes nous laissant un doute à cet égard. Aucun enfant en particulier n'était mort de méningite.

Nous avons très régulièrement suivi 7 nourrissons dont le père ou la mère était bacillifère. Bien que restés au contact de leurs parents dans des conditions d'hygiène souvent déplorables, aucun n'était mort à un an et 5 d'entre eux que nous avons eu l'occasion de voir étaient en excellent état, de même

que les nombreux autres enfants vaccinés que les parents étaient tout heureux de venir nous présenter de temps à autre.

Aussi incomplète qu'ait été notre enquête, elle a, du moins, permis de nous renseigner sur ce fait que le BCG est parfaitement supporté par le nouveau-né malgache, lequel est, par ailleurs, exposé à de multiples infections : paludisme, syphilis, pneumococcies, qui menacent constamment son existence et constituent avec la tuberculose les facteurs principaux de morbidité et de mortalité. Nous ignorons la part exacte de la tuberculose dans cette mortalité. Elle n'est sûrement pas négligeable et tend manifestement à augmenter avec l'extension de l'infection bacillaire dans ce pays, ce dont nous avons aujourd'hui la preuve indéniable.

L'avenir nous fixera sur le bénéfice que la race malgache doit retirer de la vaccination par le BCG, mais nous pouvons dès maintenant conclure que la méthode a été parfaitement acceptée à Tananarive parce qu'elle s'est montrée d'une innocuité absolue et que la mortalité des enfants vaccinés a été inférieure à celle des non-vaccinés.

Cette expérience de deux années et les résultats acquis dans les autres pays nous engagent à étendre notre champ d'action et nous étudions la possibilité de pourvoir régulièrement en vaccin les villes de Tamatave, Moramanga, Autsirabé, reliées à la capitale par voie ferrée et où nous savons que la tuberculose ne sévit pas avec moins d'intensité qu'à Tananarive.

---

*Le Gérant : G. MASSON.*









